

VESIHALLITUKSEN MONISTESARJA

1981:89

OULUJÄRVEN POHJALIIETETUTKIMUS

Frank Dösing

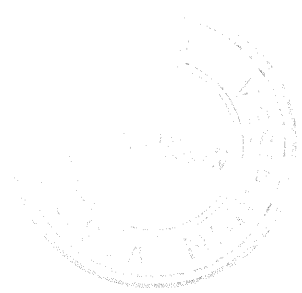
~~44~~
~~VESIHALLITUKSEN~~
~~MONISTESARJA~~

V E S I H A L L I T U K S E N M O N I S T E S A R J A

1981:89

OULUJÄRVEN POHJALIIETETUTKIMUS

Frank Dösing



Kainuun vesipiirin vesitoimisto
Kajaani 1981

Oulujärven pohjalietebakteereiden biotoiminta:
entsyymikineettinen glukoosinotto, dehydro-
genaasi- ja fosfataasiaktiviteetti ekosysteemin
jätevesikuormituksen mittoina.

Frank Düsing

SISÄLLYSLUETTELO

	sivu
1. Johdanto	5
2. Menetelmät	6
2.1 Entsyymikinetiikka	6
2.1.1. Johdanto	6
2.1.2. Teoria	8
2.1.3. Tasaussuorien laskeminen	10
2.1.4. Isotooppien käyttö entsyymikinetiikassa	11
2.1.5 Entsyymikineettisten analyysien suoritus	13
2.2 Dehydrogenaasiaktiviteetti	14
2.2.1. Johdanto	14
2.2.2. Kokeen suorittaminen	15
2.3 Fosfataasiaktiviteetti	15
2.3.1. Johdanto	15
2.3.2. Kokeen suorittaminen	17
2.4 Bakteerien kokonaispesäkelukumäärät	18
2.4.1. Pohjalietteen bakteerien kokonaispesäkelukumäärät	18
2.4.2. Pohjalietenäytteiden ottaminen	18
3. Tulokset	19
3.1 Pohjalietteen bakteerien kokonaispesäkelukumäärä	19
3.2 Pohjalietebakteerien entsyymikineettinen glukoosinotto	23
3.2.1. Kajaaninjoki ja Paltajärvi	25
3.2.2. Sokajärvi	29
3.2.3. Paltaselkä, länsiosa	29
3.2.4. Paltaselkä, itäosa	32
3.2.5. Ärjänselkä	34
3.2.6. Niskanselkä	41

	sivu
3.3 Fosfataasiaktiviteetti	44
3.3.1. Kajaaninjoki, Paltajärvi, Sokajärvi	44
3.3.2. Paltaselkä	47
3.3.3. Ärjänselkä	49
3.3.4. Niskanselkä	50
3.4 Dehydrogenaasiaktiviteetti	50
3.4.1. Kajaaninjoki, Paltajärvi	50
3.4.2. Paltaselkä	51
3.4.3. Ärjänselkä	53
3.4.4. Niskanselkä	54
3.5 Oulujärveen laskevat vesistöt	55
3.5.1. Sotkamon reitti	55
3.5.2. Hyrynsalmen reitti	57
 4. Tulosten tarkastelu	 58
4.1 Oulujärven nykyinen tila (joulu 1975)	62
 5. Yhteenveto	 66
 Kirjallisuus	 70

1. Johdanto

Oulujärvi-tutkimus tehtiin vesihallituksen toimeksiannosta Kainuun vesipiirin vesitoimistolle huhtikuun 1974 ja joulukuun 1975 välisenä aikana.

Tutkimus rahoitettiin Kajaani Oy:n, Rautaruukki Oy:n ja Kajaanin kaupungin vesiensuojelumaksuilla. Vesianalyysit suoritti Kainuun vesipiirin vesitoimiston laboratorio.

Radioaktiivisuuksien (^{14}C) mittauksen suoritti FK Antti Uusi-Rauva Helsingin yliopiston Viikin isotoppiosastolla. Entsyymikineettistä glukoosin ottoa koskeva tietokonekäsitely tapahtui Max Planck-instituutin limnologian laitoksella Plönissä, Saksan liittotasavallassa.

Kenttätutkimuksissa ja laboratorioanalyysissä oli suurena apuna FK Mikko Torssonen. Kenttätutkimuksissa auttoi lisäksi Kainuun vesipiirin vesitoimiston henkilökunta.

Esitän kaikille tähän tutkimukseen osallistuneille henkilöille sydämelliset kiitokseni heidän ystävällisestä tuestaan.

Tutkimuksen loppuraportti laadittiin saksaksi. Tämä suomenkielinen teksti on osittain tuntuvasti lyhennetty.

Järven tilaa voidaan kuvata pohjalietebakteerien bioaktiviteetin avulla. Kaikki järven ekosysteemin organismit toimivat biologisesti

aineenvaihduntaprosessiensa kautta. Ohle (1972) määritteli ns. biotoiminnan "kineettisen energian muuntamiseksi potentiaaliseksi energiaksi ja keinoksi palauttaa potentiaalinen energia kineettiseksi biosysteemin aika- ja tilavuus- tai pinta-alayksikköä kohden".

Jokaisella organismiryhmällä voidaan katsoa olevan oma bioaktiiviteettinsa, joka käsittää kunkin organismin osalta sen aineenvaihdunnan koko laajuudessaan. Niin laajoja tutkimuksia ei tämän projektin puitteissa luonnollisesti voitu suorittaa. Tässä bioaktiiviteettia, joka näin ollen on vain suhteellista, mitataan tarkoitukseen valittujen aineenvaihduntaprosessien pohjalta. "Menetelmät" osassa asiaa käsitellään lähemmin.

2. Menetelmät

2.1 Entsyymikinetiikka

2.1.1. Johdanto

Siitä lähtien kun Birge ja Juday (1934) julkaisivat tutkimuksen vesistöissä olevista liuenneista orgaanisista aineista, ovat useat tutkijat pohtineet liuenneiden orgaanisten aineiden merkitystä vedessä: Hutchinson (1957), Saunders (1957), Vallentyne (1957) ja Hill et al. (1963). Fogg (1966, 1971) on tutkinut seikkaperäisesti kasviplanktonin erittämiä veteen liuenneita orgaanisia aineita. Bakteerit osallistuvat laajalti orgaanisen aineksen muuntamiseen vesiekosysteemeissä. Eri tutkijat ovat viitanneet tähän tosiseikkaan jo pitkän aikaa: Thienemann (1927), Waksman (1941), Zo Bel (1946),

Lusnezov ja Romanenko (1966), Rhode (1961), Ohle (1962),
Nauwerk (1963).

Erittäin herkäksi tekniikaksi bakteereiden aineenvaihduntaa tutkittaessa osoittautui radioaktiivisesti merkittyjen substraattien käyttö. Parsons ja Strickland (1962) sovelsivat ensimmäistä kertaa entsyymikinetiikkaa luonnonpopulaatioiden glukoosin oton kuvaimiseen. Glukoosin oton maksimaalinen nopeus "heterotrofinen potentiaali" osoittautui käyttökelpoiseksi muuttujaksi tutkittaessa bakteerien merkitystä vesiekosysteemeissä. Tutkimuksessa selvitettiin meressä elävien bakteerien C^{14} -glukoosin ja asetaatin ottoa, joka tapahtui bakteerien kuljetusjärjestelmien välityksellä.

Aktiivista, bakteerien toimesta tapahtuvaa substraattien ottoa erityisten kuljetusjärjestelmien avulla olivat tutkineet jo aikaisemmin Cohen ja Monod (1957) sekä Kepes (1963).

Hobbie ja Wright (1965) osoittivat, että Parsons ja Stricklandin käyttämät substraattipitoisuudet olivat liian korkeita, koska näissä pitoisuuksissa (0,25 mg C/l) substraattia siirtyi bakteerisoluihin myös pelkän diffuusion vaikutuksesta.

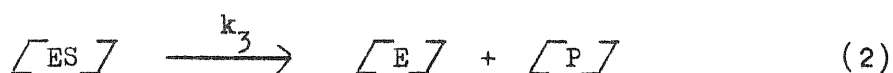
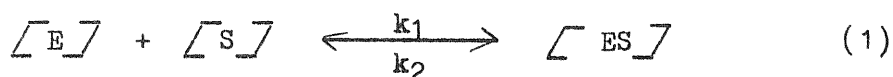
Hobbie ja Wrightin (1965) ja Wright ja Hobbien (1965, 1966) kehittämällä menetelmällä voidaan Michaelis-Menten-kinetiikkaan (1913) perustuen määrittää kolme parametria:

- 1) V_{\max} (mg/l/h), maksimaalinen teoreettinen ottonopeus
- 2) $K_t + S_n$ (mg/l), Michaelisin vakion (puolikyllästysvakio) ja substraatin luonnossa olevan pitoisuuden summa
- 3) T_t (h), kiertoaika, aika jonka bakteerit tarvitsevat luonnon pitoisuutta vastaavan substraattimäärän ottamiseen.

Maksimaalinen teoreettinen ottonopeus ja kiertoaika riippuvat olemassa olevien bakteereiden kokonaismäärästä ja niiden aktiiviteetista. Summaa ($K_t + S_n$) voidaan pitää joko K_t :n tai S_n :n ylälikiarvona. Michaelisin vakio, K_t (puolikyllästysvakio) on fysiologisesti jokaiselle yksityiselle bakteerilajille tyypillinen ja kulloisestakin substraatista riippuva vakio. Tässä tutkimuksessa valittiin substraatiksi glukoosi, sillä useimmilla bakteereilla on entsyymijärjestelmiä glukoosin hyödyntämiseksi. Overbeck totesi Plussee-järvellä (Plön), että 63 % 115-Difko-ravinneagarilla eristetyistä bakteerikannoista kykeni aktiiviseen glukoosinottoon. Omissa Fulda-jokea koskevissa tutkimuksissani (Düsing 1973) prosenttiosuus oli 72 %.

2.1.2. Teoria

Solun aineenvaihdunta perustuu moniin erilaisiin biokemiallisiin reaktioihin. Solu muuntaa ulkoa päin tulevia yhdisteitä rakennusaineiksi ja energianlähteiksi. Aineiden muuntuminen toteutuu vaiheittain, joista jokainen erillinen vaihe kuvastaa jonkin energiakynnyksen ylittämistä. Substraattikohtaiset entsyymit mahdollistavat energiakynnyksen ylittämisen saattamalla substraatin reaktioherkkään tilaan ja palautumalla kuitenkin itse reaktion täysin päätyttyä entiselleen (Michaelis ja Menten 1913).



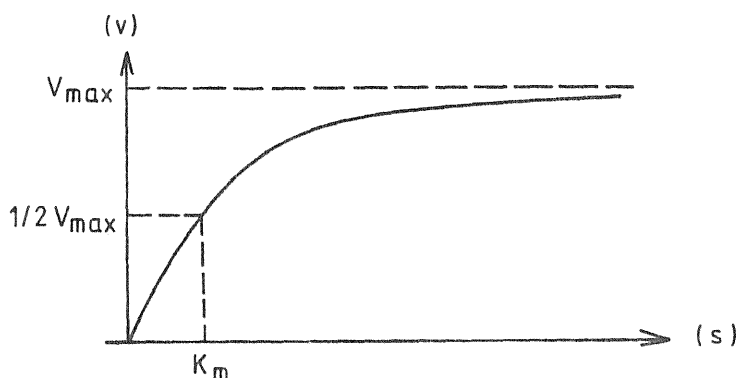
$$\frac{[E] \times [S]}{[ES]} = K_s$$

E = entsyymi, S = substraatti, ES = entsyymisubstraatti - kompleksi

Maksimaalista kulutusnopeutta, jolloin substraatti on kyllästetty entsyymillä ja esiintyy täydellisesti ES:nä, kuvataan seuraavalla yhtälöllä:

$$V_{\max} = k_3 \cdot E_{\text{total}} \quad (v = k_3 \cdot [ES]) \quad (4)$$

v = substraatin ottonopeus



Kuva 1. Substraatin ottonopeuden (v) riippuvuus substraattipitoisuudesta (S).

Reaktion, jossa entsyymi toimii katalysaattorina, nopeus on substraattipitoisuuden funktio ja sitä kuvaa hyperbeli, jonka asymptoottiarvona on maksimaalinen nopeus.

Michaelis ja Menten (1913) kuvasivat substraattipitoisuuden ajallista muuttumista katalysaattorin avulla tapahtuvan reaktion vaikutuksesta seuraavalla differentiaaliyhtälöllä:

$$v = \frac{dS}{dT} = V_{\max} \cdot \frac{S}{K_m + S} \quad (5)$$

v = substraatin ottonopeus

K_m on tässä yhtälössä substraattipitoisuus kun nopeus on puolet

maksimaalisesta eli

$$\text{kun } v = \frac{1}{2} V_{\max} \quad \text{on } S = K_m \quad (\text{kuva 1.})$$

2.1.3. Tasaussuorien laskeminen

Jotta yhtälön (5) avulla saadusta kyllästyskäyrästä voitaisiin määrittää Michaeliksen vakio, on puolikyllästyksen alue mitattava tarkasti ja suurin mahdollinen nopeus määriteltävä tarkasti. Lineweaver ja Burk (1934) ovat esittäneet menetelmän, jossa jo muutamat mittauspisteet riittävät entsyymikineettisten parametrien V_{\max} ja K_m laskemiseen. Heidän menetelmässään yhtälön (5) käänteisarvo kerrotaan S :llä ja saadaan yhtälön $y = ax + b$ kuvaama suora, jossa abskissana on $X = \frac{S}{v}$ ja ordinaattana $y = S$. Suorien kulmakertoimenä on faktori a .

$$a = \frac{K_m}{V_{\max}}$$

Lineweaverin ja Burkin esittämä tasaussuorien yhtälö on muotoa:

$$\frac{S}{v} = \frac{K_m}{V} + \frac{S}{V} \quad (6)$$

Erään toisen mahdollisuuden suorien laskemiseksi esitti Eadie (1942):

$$v = V - K_m \cdot \frac{v}{S} \quad (7)$$

Eadien menetelmällä on edelliseen verrattuna se etu, etteivät pisteet kasaudu suorien toiselle puolelle ja (S) -koordinaatti lähestyy ääretöntä.

Michaelis-Menten-kinetiikan mukaan tapahtuvat tulkinnat ovat, kuten yllä mainittiin, mahdollisia vain, jos ES-kompleksin muodostumisnopeus on paljon suurempi kuin sen kulutusnopeus P:hen ja E:hen nähden.

2.1.4. Isotooppien käyttö entsyymikinetiikassa

Parsons ja Strickland ryhtyivät ensimmäisinä soveltamaan teoreettisia ja laboratoriokokeilla tarkistettuja päätelmiään luonnonmukaisiin olosuhteisiin. He muunsivat Michaeliksen yhtälön isotooppien käyttöä varten seuraavaan tapaan:

$$v = \frac{c (S_n + A)}{C \mu t} \quad (8)$$

Tällöin on:

c = näytteestä suodatettujen organismien radioaktiivisuus

S_n = luonnostaan olemassaoleva substraattipitoisuus mg/l

A = lisätty substraattipitoisuus näytteessä

C = impulssia/min $1 \mu \text{Ci } C^{14}$ kohti

μ = näytteeseen lisätty $\mu\text{Ci:n}$ määrä

t = inkubointiaika h:na

Luonnonmukaisen planktonpopulaation ottokinetiikkaa voidaan kuvata matemaattisesti muuttamalla Parsons ja Stricklandin yhtälö (8) uuteen asuun ja sijoittamalla se Lineweaver ja Burkin tasaussuorien yhtälöön (6). Yhtälössä (6) S tarkoittaa luonnostaan olemassa olevan ja näytteeseen lisätyn substraatin summaa:

$S = S_n + A$. Yhtälö (8) kuuluu muutettuna:

$$\frac{C_{ut}}{c} = \frac{(S_n + A)}{v} \quad (9)$$

Yhtälöt (6) ja (9) yhdistettynä antavat tulokseksi:

$$\frac{C_{ut}}{c} = \frac{(K_t + S_n)}{v} + \frac{A}{v} \quad (10)$$

Jos $\frac{C_{ut}}{c}$: lle ja S :lle etsitään yhteiset arvot, saadaan kineettiset parametrit v_{max} ja $(K_t + S_n)$.

Yhtälössä (10) suora, jonka kulmakerroin on $\frac{1}{v_{max}}$, leikkaa abskissan pisteessä $-(K_t + S_n)$.

Lisäksi tasaussuorien leikkauspiste ordinaatan kanssa antaa tulokseksi tutkitun substraatin kiertoaajan. Kiertoaajan laske-
minen voidaan johtaa seuraavasta kaavasta:

$$\frac{C_{ut}}{c} = \frac{(S_n + A)}{v} \quad (9)$$

$$\frac{C_{ut}}{c} = \frac{(K_t + S_n)}{v} + \frac{A}{v} = \quad (10)$$

Tasaussuorien ja ordinaatan leikkauspisteessä $(S):n$ arvo = 0.

$$\frac{C_{ut}}{c} = \frac{S_n}{v} = \frac{K_t + S_n}{v} = T_t \quad (11)$$

Siten ottokinetiikasta voidaan laskea kolme parametria:

- 1) v_{max}
- 2) $K_t + S_n$
- 3) T_t

2.1.5. Entsyymikineettisten analyysien suoritus

Analyysin suoritus aerobisissa olosuhteissa

Sekoittumattomana saadun pohjalietenäytteen pintakerroksesta otettiin 1 - 4 mg tai 1 - 5 ml. (Jos ottaminen tapahtui tilavuuden mukaan määrä muutettiin arvioinnissa g:iksi tuorelietettä.) Nämä pohjalietenäytteet sekoitettuna steriiliin tislattuun veteen (20 - 50 ml), johon lisättiin hajoitusaineeksi 5 ppm Tween 80:tä, laitettiin 16 erlenmeyerkolviin (100 ml), joihin oli mitattu 10 ml steriiliä vettä, 1 - 2 ml kuhunkin. Kolvit suljettiin silikonitulpilla. Kuhunkin kolmeen samanaikaisnäytteeseen ja yhteen sokkonäytteeseen lisättiin steriileillä pipeteillä 4 eri pitoisuutta 25, 50, 100, 200 μ l = 30, 60, 120, 240 μ g D - (U-¹⁴C)-glukoosia.

Merkitty glukoosi oli tilattu Amershamin radiokemiallisesta keskukselta, sen ominaisaktiivisuus oli 16,7 μ Ci/mg ja sitä lisättiin 1 ml = 1 μ Ci-liuoksena.

Sokkonäytteet kiinnitettiin heti merkityn substraatin lisäämisen jälkeen useilla tipoilla Lugolin liuosta (Merck 9261).

Muita kolveja ravistettiin 15 - 20 °C lämpötilassa ravistelupöydällä 1 - 2 tuntia. Samalla tavoin kiinnitettyinä kuin sokkonäytteetkin ne suodatettiin 0,2 μ suodatinkalvolla (Sartorius t. Millipore) ja suodatin huuhdottiin vielä jälkeensä 10 ml:lla tislattua vettä.

Kaikki näytteet mitattiin nestetuikelaskijalla. Nestetuikemittauksia varten suodatin asetettiin nestetuikepulloon, johon lisättiin 10 ml nestetuikeliuosta: 100 g naftaliinia (Merck 6200) ja 5,5 g permablendiä (Packard) 1 l:ssa dioxonia (Merck 9671).

Analyysien suoritus anaerobisissa olosuhteissa

Pohjalietenäytteet kuljetettiin ilmatiiviisti suljetussa näytteenottoputkessa laboratorioon, missä tarvittava määrä näytettä otettiin steriilillä kertakäyttöruiskulla. Näytteiden laimentamiseen käytettiin vain hapetonta vettä (N_2 :lla kaasutettuna). Kokeen aikana N_2 -kaasua (teknisesti puhtaana) johdettiin erityisen letkujärjestelmän avulla kaikkien kolvien läpi. Kiinnittämisen jälkeen toimittiin kuten yllä.

2.2 Degydrogenaasiaktiviteetti

2.2.1. Johdanto

Mikro-organismien aineenvaihduntaa ei voida ylläpitää ilman entsyymiryhmää, jota vaikutustapansa vuoksi yleisesti kutsutaan dehydrogenaaseiksi. Dehydrogenaasiaktiviteetti lakkaa muiden entsyymien toiminnasta poiketen solun kuollessa. Siten voidaan määritellä mikro-organismien tarkemmin erittelemätöntä biokemiallista toimintaa niiden dehydrogenaasiaktiviteetin perusteella (Ohle 1968, Lehnhard 1964).

Biologisia pelkistymistapahtumia, jotka ilmenevät elektronien siirtymisenä, voidaan tutkia sopivilla väriaineilla. Jensen,

Sachs ja Bacdanski (1951) viittasivat 2,3,5-triphenyltetra-zoliumchloridiin (TTC) pelkistymien indikaattorina. Vesiliukoinen väritön TTC reagoi toimivien solujen dehydrogenaaseihin ja pelkistyy punaiseksi, veteen liukenemattomaksi formatsaaniksi. Tämä voidaan uuttaa metanolilla ja mitata fotometrisesti aallonpituuden ollessa 480 nm.

2.2.2. Kokeen suorittaminen

Kolme grammaa tuorelietettä liuotettiin 30 ml:aan tislattua vettä ja ravistettiin 30 sekuntia tärisyttimellä. Tästä liuoksesta täytettiin viisi sentrifuugiputkea, kuhunkin 5 ml. Neljä näytettä pantiin inkuboitumaan 24 h:ksi 25⁰C lämpötilaan pimeään, samalla kun niihin lisättiin 5 ml TTC:a (0,4 %). 10 minuutin sentrifuugikäsittelyn (4000 rpm) jälkeen uutettiin 3 ml:lla metanolia. Formatsaanin täydelliseksi uuttamiseksi näytteitä ravistettiin tärisyttimellä minuutin ajan viidesti 5 minuutin välein ja pantiin uudelleen sentrifuugiin. Näytteet mitattiin fotometrisesti sokeaa näytettä vasten aallonpituudella 480 nm. 480 nm:llä 1 cm:n kyvetissä 188 g formatsaania aiheutti ekstinktion ¹ (Deutsche Einheitsverfahren 1967). Dehydrogenaatio ilmaistaan µg:oina formatsaania grammassa tuorelietettä vuorokautta kohti.

2.3 Fosfataasiaktiviteetti

2.3.1. Johdanto

Fosfori on tärkeä ravinne tuottajille ja sellaisena se säätelee

aineenvaihdunnan kulkua. Monissa seisovissa vesissä fosfori on usein tuotantoa rajoittava tekijä. Nykyisen tiedon perusteella luonnonmukaisessa tilassa olevien vesistöjen sisältämä orgaanisen fosforin määrä ylittää tuntuvasti fosfaattifosforimäärät (Krause ja Stegman 1968). Jotta ymmärrettäisiin fosforin merkitys ekosysteemissä, ei tarvita ainoastaan tietoja tämän alkuaineen pitoisuuksista vaan myöskin kiertonopeuksista. Mortonin (1965) mukaan useimmat orgaaniset komponentit ovat pysyviä pH:n ollessa noin 7. Siten useimmissa luonnontilaisissa vesistöissä näiden komponenttien fosfataasien avulla tapahtuva katalyyttinen hydrolyysi muodostaa tärkeän mekanismin ortofosfaattien uusiutumisessa. Tällöin ortofosforihapon esterit ja tiivistyneiden fosforihappojen esterit ovat huomattavimpia liuonneita orgaanisia fosforiyhdisteitä (Vogler 1970). Koska kaikkeen elävien organismien avulla tapahtuvaan orgaanisten komponenttien muuttumiseen ovat osallisina entsyymit, Steiner (1938) ja Krause (1962) päättelivät, että luonnontilaisissa vesistöissä täytyi olla saatavilla toimivia fosfataaseja joko soluihin tai aineshiukkasiin sitoutuneina tai myöskin vapaina vedensisältiminä entsyymeinä.

Katalyyttisesti tapahtuvan orgaanisten fosforikomponenttien hydrolyysin olemassaolon osoittivat merivedestä Goldschmiedt (1959), Wai et al. (1960), Strickland ja Solorzano (1966) ja sisävesistä Overbeck ja Babenzien (1964), Reichardt, Overbeck ja Stenbing (1967), Berman (1969), Reichardt (1971, 72, 73), Berman ja Moses (1972) ja Jones (1972).

Laboratorio-olosuhteissa on jo kauan tehty puhdasviljelmiä ja

niiden fosfataaseja koskevia entsymaattisia tutkimuksia.

Entsymaattisten tutkimusmenetelmien soveltaminen luonnon olosuhteisiin on toistaiseksi sitävastoin ollut niukkaa, (kts. yo. kirjallisuutta koskevat lainaukset). Luonnon olosuhteissa tehtävät entsyymianalyysit on järjestettävä siten, että tarkastellaan laadullisesti mahdollisimman samankaltaisia entsyymitoimintoja. Jotta välttyttäisiin luonnon olosuhteista saatujen näytteiden preparoimiselta (rikastamiselta jne.), korostuu yleispätevän substraatin tarve.

Kuten TTC dehydrogenaasien ryhmässä, niin täyttää pNPP (p-nitrofenyylifosfataatti) fosfataasien osalta tämän vaatimuksen. "Happamien" ja "alkaalisten" fosfataasien vaikutuksesta pNPP:sta vapautuu pNP:ta (p-nitrofenolia), josta kokeen lopussa, kun fosfataasien vaikutus estetään NaOH:lla, muodostuu keltainen anioni. Fosfataasiaktiiviteetti on suoraan verrannollinen aikayksikössä vapautuvaan pNP:n määrään.

2.3.2. Kokeen suorittaminen

Fosfataasiaktiiviteetti määritettiin Reichardtin (1971) järvi-vesille muunnetulla Bessay et al:n (1946) menetelmällä. Steriileissä koeputkissa, jotka suljettiin lasi- tai silikoonitulpilla, inkuboitiin 1 ml:a kosteaa pohjalietettä sekoitettuna 2 ml:an steriiliä tislattua vettä. Tähän veteen oli aiemmin lisätty 1 ml 10^{-3} mol. pNPP:ta. Tämä seos puskuroitiin 1 ml:lla 0,2 mol. glysiin-NaOH puskurilla (tai 0,05 mol. sitraattipuskurilla). Inkubointi

kesti pimeässä 25°C lämpötilassa 12 tai 24 tuntia. Reaktio pysäytettiin 0,05 mol. EDTA:ssa olevalla 1 ml:lla 1 N NaOH:ta, jonka jälkeen näyte pantiin sentrifugiin ja mitattiin pNP:n ekstinktio aaltopituudella 420 nm tislattua vettä vasten.

1 nMol pNP muodostuminen minuutissa 1 kg:aa tuorelietettä kohti on entsyymiaktiviteetin yksikkö.

Vesinäytteitä analysoitaessa näytteen koko oli 1 l ja koeliuoksen 3 ml.

2.4 Bakteerien kokonaispesäkelukumäärät

2.4.1. Pohjalietteen bakteerien kokonaispesäkemäärät

Pohjalietteen bakteereiden kokonaispesäkelukumäärät määritettiin Difco Nutrient Agar B 1:ä ja maljavalutekniikkaa käyttäen. Lisäksi käytettiin jonkin verran membraanisuodatusmenetelmää (erytrosiini-värjäys). Saadut pesäkeluvut olivat kuitenkin epätarkkoja huolimatta TWEEN 80 käsittelystä. Epätarkkoihin tuloksiin vaikutti osittain myös puutteellinen mikroskooppikalusto. Bakteerien lukumäärä suhteutettiin 1 g:aan tuorelietettä (TL).

2.4.2. Pohjalietenäytteiden ottaminen

Pohjalietenäytteet otettiin aluksi MMT Toivo Nissisen kehittämällä pneumaattisella putkinoutimella, joka mahdollistaa täysin häiriintymättömien pohjalietenäytteiden ottamisen. Myöhemmin näytteet otettiin tekijän Nissisen noutimesta kehittämällä putkinoutimella. Täysin häiriintymättömien pohjalietenäytteiden saanti osoittautui tärkeäksi, koska biotoiminnat saattavat vaihdella tuntuvasti jo 0 - 2 cm:n välisten kerrostumien osalta.

3. Tulokset

Oulujärven pohjalietetutkimukset alkoivat huhtikuussa 1974. Suuri osa näytteiden ottopaikoista keskittyi Paltajärvelle, Sokajärvelle, Paltaselän läntiselle jokisuiston edustalle sekä Ärjänselälle. Koska tähän mennessä ei Suomessa vielä ole tehty pohjalietteen entsyymikinetiikkaan perustuvia tutkimuksia, Kajaanijoesta tulevan virtauksen ulkopuolella sijaitsevat näytteiden-ottopaikat toimivat vertailukohtina. Myöhemmin projektia laajennettiin. Mukaan otettiin vertailukohteiksi Oulujärveen laskevat vesistöt, nimittäin Hyrynsalmen ja Sotkamon reitit. Näytteenottopaikkojen sijainti käy ilmi kuvasta 2. Oulujärveen laskevien vesistöjen näytteenottopaikkojen sijaintia käsitellään asianomaisessa luvussa.

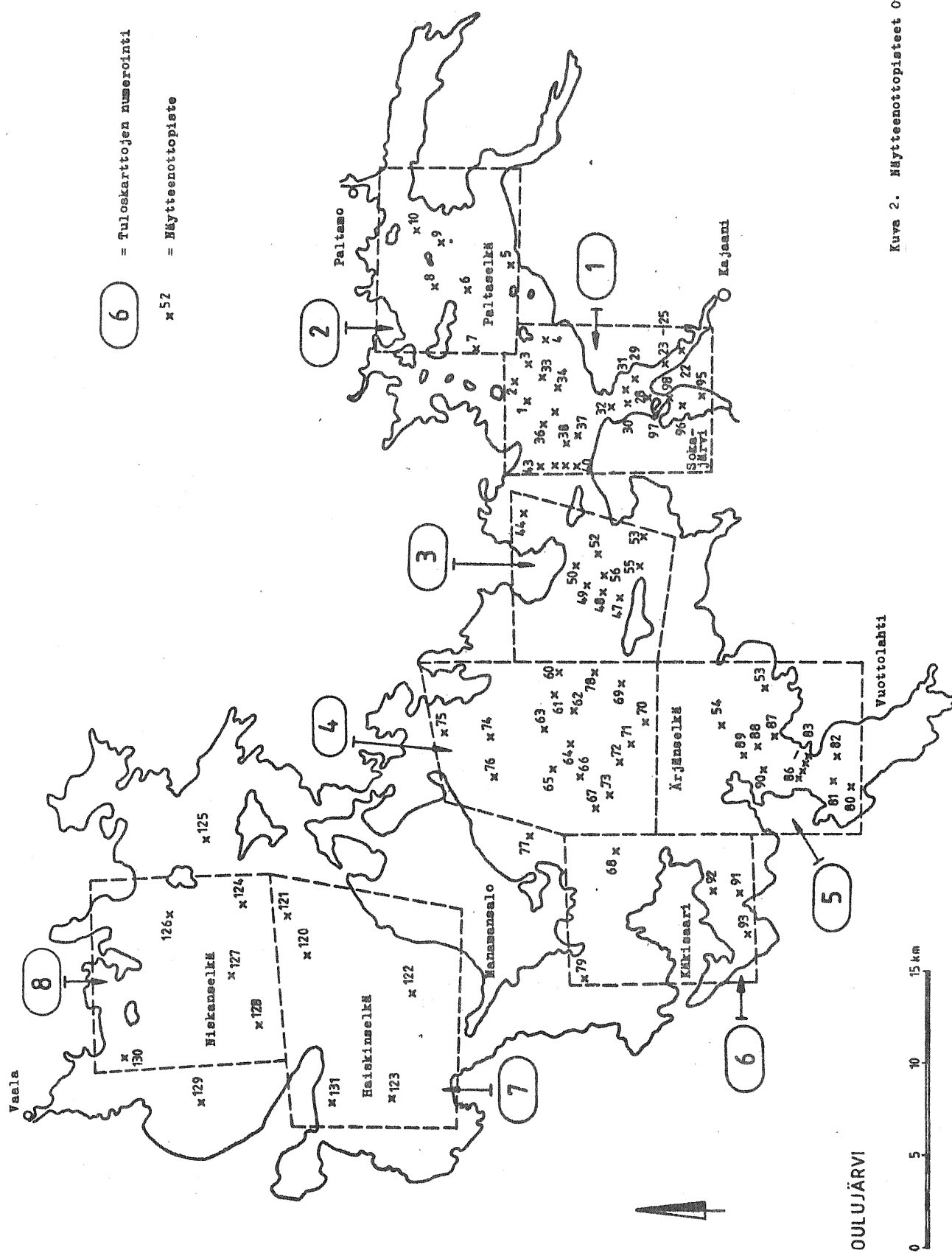
Oulujärven pohjalietteen bioaktiivisuutta käsittelevissä esitutkimuksissa menetelmiä sovellettiin suomalaiseen biotooppiin. Tällöin määritettiin entsyymikinetiikan kannalta paras lisättävän substraatin pitoisuusalue sekä kutakin koepulloa kohden tuleva optimaalinen tuorelietteen määrä. Fosfataasiaktiviteetin suhteen määritettiin pH-optimi ja kokeen kesto, joka puolestaan riippuu bakteerikannan runsaudesta. Samoin meneteltiin TTC:n lisäämisen ja kokeen keston suhteen.

3.1 Pohjalietteen bakteerien kokonaispesäkelukumäärä

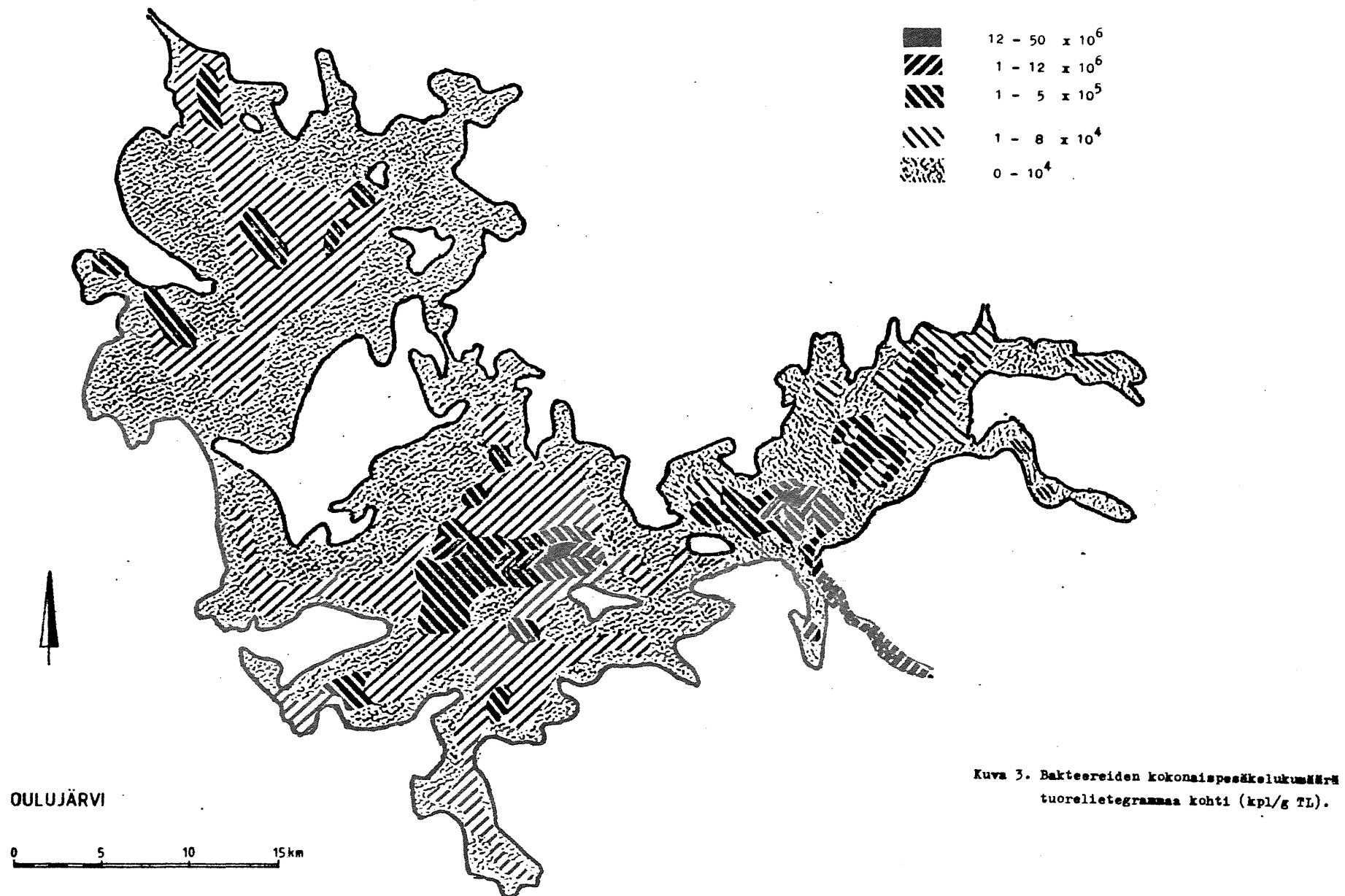
Kuvissa 3 A-C Oulujärvi on jaettu Difco B 1 agarilta laskettujen pesäkelukujen perusteella viiteen alueeseen.

6 = Tulokarttojen numerointi

x52 = Häyteenottopiste



Kuva 2. Häyteenottopisteet Oulujärvellä



Yhden näytteenottopaikan tulosarvojen hajonta on usein huomattava. Siksi nämä viisi luokkaa on ymmärrettävä ainoastaan suhteellisen järjestysasteikon kannalta, ei absoluuttisina arvoina.

Pohjalietteen bakteereiden kokonaispesäkelukumäärän jakautuminen näihin viiteen alueeseen perustuu eri vuodenaikoina tehtyihin analyysihin ja esittää vuoden keskiarvoa. Tuloksia ei ole tilastollisesti varmistettu. Eräissä paikoissa kokonaispesäkelukumäärä todettiin vain 2 kertaa, toisissa jopa 17 kertaa. Alueeseen $0 - 10^4$ bakteeria/g TL (TL = tuorelietettä) nähden on huomautettava, että tällöin on usein kysymys hiekkaisesta pohjakerrostumasta, josta vain harvoissa tapauksissa saatiin näytteitä. Nämä harvat näytteet osoittautuivat miltei "steriileiksi". Alueeseen $12 - 50 \times 10^6$ bakteeria/g TL voidaan katsoa kuuluvan miltei koko Kajaanijoen (Kajaani Oy:n alapuolelta). Vain hieman matalammat rantavyöhykkeet, joihin ei ole kertynyt kuitua, muodostavat poikkeuksen. "Kuitupohjilla" tosiasiallinen bakteerimäärä lineee vielä 1 - 3 potenssia korkeampi.

Em. suuruusluokkaa olevia bakteerimääriä löydettiin pisteistä Paltaselkä 1, 35, 36 ja Ärjänselkä 60, 61. Oulujärveen laskevista vesistöistä (Hyrnsalmen reitti, Sotkamon reitti) tavattiin vastaava kokonaispesäkelukumäärä vain Sotkamon meijerin edustalta.

Bakteereiden kokonaispesäkelukumäärien suurusjärjestys korreloi syvänteiden ja jätevesivirran kanssa. Poikkeuksen muodostaa Niskan- selällä vain n. 2,5 m syvä Painuanlahti. Täältä tavattavien kohon- neiden arvojen on katsottava johtuvan asutuksen jätevesistä.

Yleisesti voidaan todeta, että suurimmat pohjalietteen bakteerimäärät tavataan Paltaselän länsiosasta aina Ärjänselän puoliväliin. Tulosarvojen hajonta Vuottolahdella (p 81, p 83, p 84) oli suuri. Ajoittain (talvella 1974) pohjan pinta 0 - 1 cm oli täysin steriili ja siinä oli mineraalilietettä 0,3 - 0,7 cm:n päällyskerros. Mineraaliliete oli peräisin Rautaruukki Oy:n kuona-altaan padon murtumasta. Kokonaispesäkelukumäärien avulla päästään vain likimääräiseen luokitukseen, mutta kokonaispesäkelukumäärät ovat välttämättömiä entsyymikineettisen glukoosinotto-, dehydrogenaasi- ja fosfataasiaktiiviteettitulosten tulkitsemiseksi.

3.2 Pohjalietebakteerien entsyymikineettinen glukoosinotto

Nimenomaan pohjalietebakteereita koskevassa tutkimuksessa näytteenottotapa on erittäin tärkeä: on käytettävä vain täysin häiriintymättömiä näytteitä.

Tässä tutkimuksessa analysoitiin vain sedimentin pintaa 0-1 cm. Lietettä ei sekoitettu ennen punnitsemista. Mikäli koko 0 - 1 cm:n näyte homogenisoidaan glukoosin absorboituminen ensiksikin voimistuu sokkonäytteen pohjalietehiukkasissa, toiseksi V_{\max} kohoaa, jos näyte on peräisin alueilta, joissa pohjaa lähellä olevassa vedessä on vielä runsaasti happea. Toisaalta V_{\max} alenee nopeasti, jos näyte on peräisin täysin anaerobisilta alueilta (laboratoriokokeet aerobisissa olosuhteissa).

Kokeessa käytetty lämpötila vaikuttaa glukoosinottoon. Tässä tutkimuksessa käytettiin eri vuodenaikoja varten 4°C:tta ja 20°C:tta.

Paras vaihtoehto olisi ollut luonnonmukaisia olosuhteita vastaava

lämpötila, minkä käytöltä puuttuivat kuitenkin tekniset edellytykset.

C-¹⁴-glukoosin lisäyksen täytyy jossakin määrin vastata in situ substraattipitoisuuksia. Lisäksi on inkubointiaika määrättävä siten, että vain n. 5 - 15 % lisäystä glukoosista otetaan, jotta vältettäisiin substraattipitoisuuden vaikutukset kokeen kestäessä. Substraatin kokonaisottoa laskettaessa on otettava huomioon hengityksessä, CO₂:na, menetetty substraatin osuus.

C¹⁴-glukoositekniikkaa ei voida käyttää sokeasti rutiinimenetelmänä. Mittauksilla saaduista tiedoista voidaan tosin aina tehdä joitakin laskelmia, mutta jotta tuloksia voitaisiin tulkita on koejärjestelyn täytettävä seuraavat edellytykset:

Laskelmien yhteydessä on tarkistettava, että näytteeseen tehdyt substraattilisäykset ovat oikealla pitoisuustasolla ja saatu käyrä osoittaa kyllästymisfunktiota. Mikäli tasaussuora on sigmoidinen niin kyseessä on useimmiten polygeenisten bakteerien aiheuttama vääristymä (Williams 1973) ja tällöin tulosten käytettävyys on kyseenalaista. Samalla tavoin tulokset on testattava tilastollisesti ja niiden hajonta saa olla vain vähäistä. Samasta näytepaikasta otettujen näytteiden täytyy lyhyellä aikavälillä osoittaa toisiaan vastaavia toimintoja.

Kartoilla 1 - 8 on kuvattu kesän ja talven bioaktiivisuuksia entsyymikineettisten muuttujien, T_t:n ja V_{max}:n avulla. Tulokset ovat ko. ajanjakson keskiarvoja.

Poikkeavat K_t-arvot selittävät, miksi joissakin näytteenottopaikoissa

esiintyi poikkeavia kiertoaikoja, vaikka V_{\max} :t olivat samoja. K_t vastaa tässä yhteydessä summaa ($K_t + S_n$), koska S_n :ää ei voitu erikseen tarkasti määrätä. Ruchti & Kunklerin (1966) mikromenetelmä mahdollistaa glukoosipitoisuuden tarkan, entsymaattisen määrittämisen, mutta tässä tutkimuksessa käytettävissä ei ollut tarkoitukseen sopivaa välineistöä.

3.2.1. Kajaaninjoki ja Paltajärvi

Oulujärven pääasiallisen kuormituksen aiheuttivat tämän tutkimuksen aikana Kajaani Oy ja Kajaanin kaupunki. Kajaani Oy:n jätevedet muodostivat määrällisesti ehdottomasti suurimman kuormituksen. Tehtaan yläpuolella joen pohja on voimakkaan virtauksen tähden muodostunut sellaiseksi, ettei mitään pintalietenäytteitä voitu ottaa. Kajaani Oy:n alapuolella on joen keskikohdalla ja kaikissa suuremmissa syvänteissä puhdasta "kuitulietettä".

Bakteerimäärät ovat muuhun Oulujärven pohjalietteeseen verrattuna erittäin korkeita: $10 \times 10^6 - 10 \times 10^8$ /g TL. Glukoosinottona mitattu toiminta tosin on vähäistä. Kartan 1. symbolit osoittavat niiden näytepaikkojen osalta, jotka sijaitsevat pääuomassa ja jonne kuitua on varastoitunut suurimpien syvänteiden pohjalle, että glukoosin ottoa tosin tapahtuu, mutta että entsyymikineettinen kuljetusjärjestelmä on häiriintynyt. Tämän elinympäristön ekologiset olosuhteet vaikuttavat ehkäisevästi glukoosin ottoon, jos koe tehdään anaerobisissa olosuhteissa (N_2 -kaasutus). Jos sitä vastoin kuitulietteestä otettuja bakteereita viljellään kaksi vuorokautta aerobisesti glukoosia sisältävässä liuoksessa, glukoosinotto nousee hyppäyksenomaisesti eikä mitään ehkäisyä voida enää todeta.

Karttojen 1 - 8 symbolien selitykset

1. $V_{\max} = {}^{14}\text{C}$ -glukoosin teoreettinen, maksimaalinen ottonopeus:
mg/g TL/h.



0,350 - 1,40



0,10 - 0,60



0,003 - 0,20



0,000 2 - 0,004



0,000 01 - 0,001



0,000 001 - 0,000 01

2. $T_t = {}^{14}\text{C}$ -glukoosin kiertoaika



0,1 - 1 h



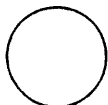
1 - 5 h



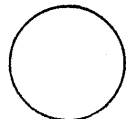
5 - 10 h



10 - 30 h



30 - 80 h



100 - 200 h

(-) analyysiä ei tehty

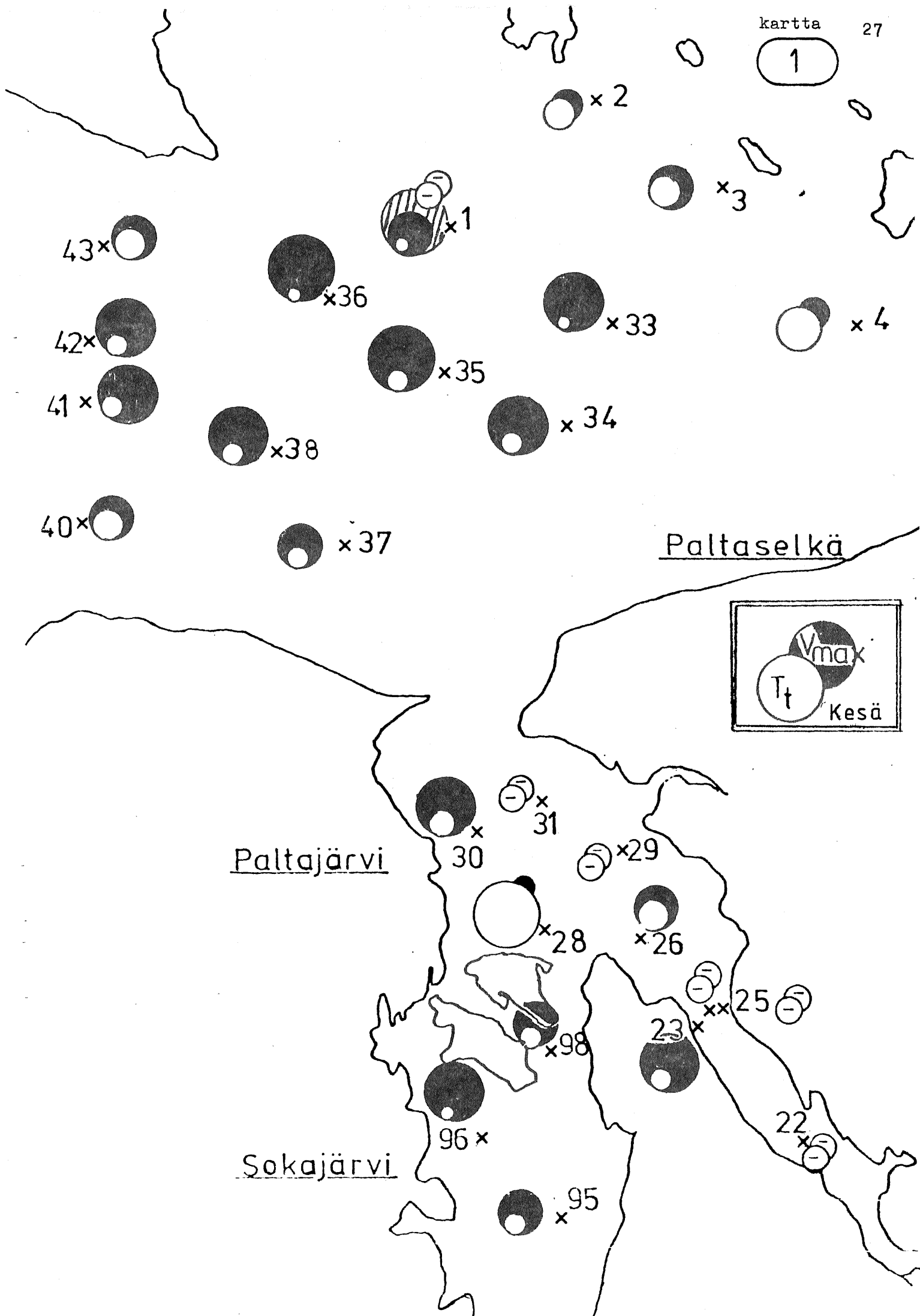
? analyysejä vähän, sangen suuri hajonta

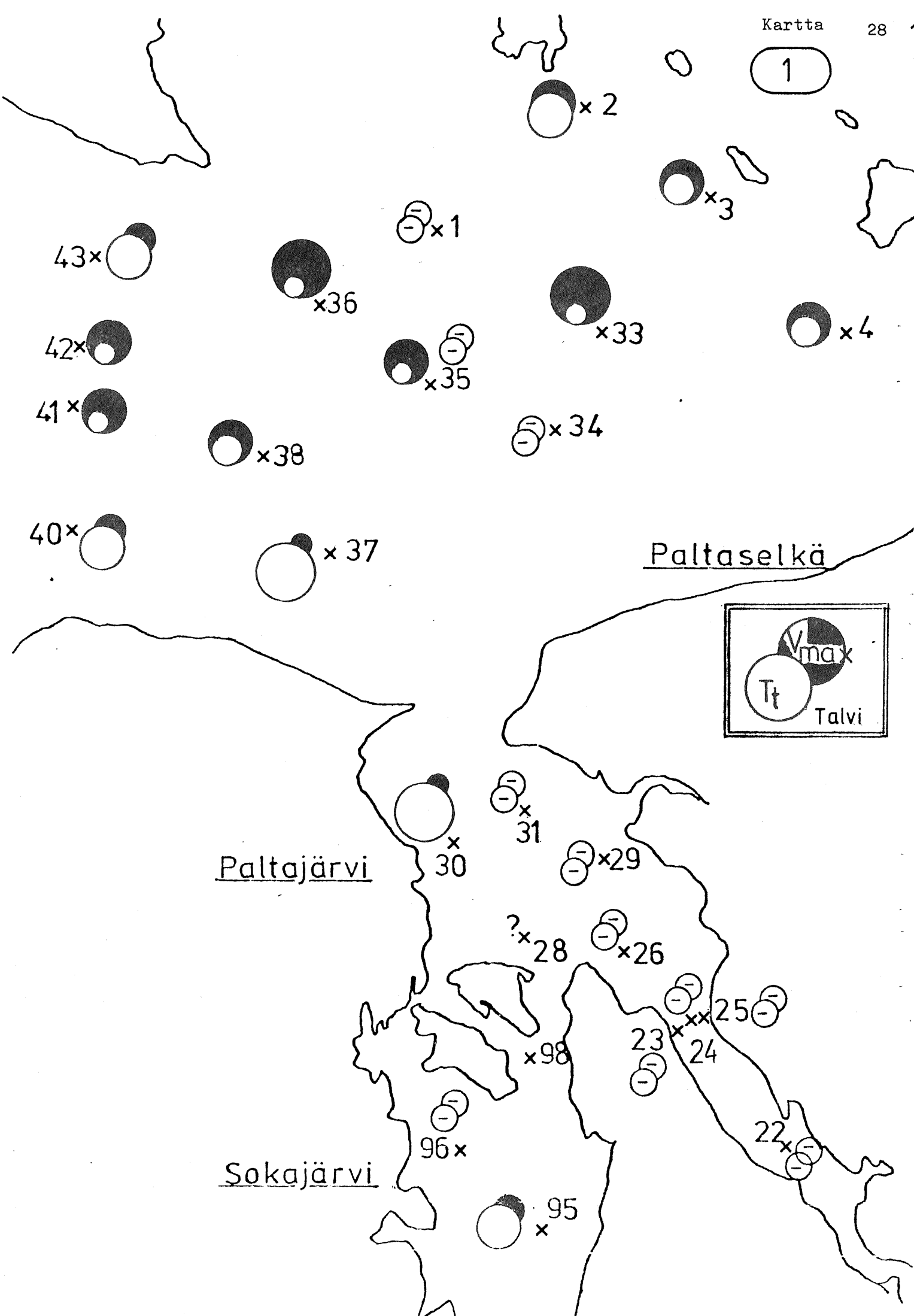


1. Glukoosinottoa esiintyy, mutta otto ei noudata
kyllästysfunktioita

2. Entsyymikinetiikan inhibitio

1





Näytteidenottopaikoissa p 23, p 26 ja p 30 (kartta 1) glukoosinotto on verrattavissa Paltaselän länsiosan glukoosinottoon. Näissä kolmessa näytteenottopaikassa kuitu ei peitä luonnonmukaista pohjalietettä. Talvella, kun veden liikkuminen on vähäistä ja hapen saanti puutteellista, Kajaaninjoessa ja Paltajärvessä vallitseva tilanne huononee: vain p 30:ssä voidaan enää mitata glukoosinottoa, T_t on noussut kesän 3 - 4 tunnista talvella 55 - 80 tuntiin.

3.2.2. Sokajärvi

Sokajärvi on voimakkaasti rehevöitynyt ja ajoittain sinne virtaa tuuliolosuhteista riippuen Kajaani Oy:n jätevesiä. Rehevöitymisen osoittavat pohjalietteen bakteereiden korkeat kokonaispesäkelukumäärät, mikä ei kuitenkaan päde Sokajärven eteläosan hiekkaiseen pohjaan nähden. Edelleen rehevöitymisen osoittavat lyhyt glukoosin kiertoaika T_t ja korkea maksimaalinen ottonopeus V_{max} . Entsyymikineettinen tarkastelu osoittaa vertailtaessa Paltaselän länsiosaa koskeviin lukuihin kuitenkin vain alhaisia $(K_t + S_n)$ -arvoja. Laimennuskokeen (Allen 1968) perusteella S_n (luonnonolosuhteiden mukainen substraattipitoisuus) vaihtelee 10 ja 50 μg glukoosia/kg TL välillä, Paltaselällä 100 - 400 μg . Kesän ja talven välinen ero biotoiminnassa on huomattava. Talvella p 96:ssa on esiintynyt entsyymikineettisiä häiriöitä, joiden syytä ei ole voitu kiistattomasti selvittää. Rajoittavana tekijänä p 95:ssä lienee talvella lämpötila. Ottonopeuden aleneminen tapahtuu suunnilleen samaan tapaan kuin muissa matalissa kohdissa.

3.2.3. Paltaselkä, länsiosa

Paltajärvi laskee Paltaselän länsiosaan. Jo vesianalyyseistä voidaan todeta Oulujärven tämän osan olevan saastuneinta.

Kokonaispesäkelukumäärä on suurin järven tässä osassa. Pohjalietteen toiminnan vilkkaus heijastaa alueen virtausolosuhteita. Kesäolosuhteissa T_t - arvot ovat kauttaaltaan alle 3 h, enimmäkseen 0,1 h:n paikkeilla ja melko usein alle 0,1 h. Vastaavasti myös V_{max} arvot ovat korkeita, $(K_t + S_n)$ on kuten edellä mainittiin, 100 ja 400 $\mu\text{g/l}$ TL välillä.

Matalat kohdat muodostavat poikkeuksia: Paltajärvestä tuleva virtaus ei normaalisti ulotu pisteisiin p 2, p 3 ja p 4. Näissä kohdissa pohjaliete on jo optisesti verrattavissa itäosan pohjalietteen kanssa. P 40:ssä ja p 43:ssa pohjaliete on hiekansekaista. Matalien alueiden näytteidenottopaikoissa kokonaispesäkelukumäärät ovat järven muiden osien kokonaispesäkelukumääriä pienempiä.

Paltaselän länsiosan pohjalietteen biotoiminnat on tutkittu aerobisissa ja anaerobisissa olosuhteissa. Kartan 1. tulokset on laskettu vilkkaamman toiminnan perusteella, mikäli koe on suoritettu sekä aerobisissa että anaerobisissa olosuhteissa.

P 1:n symbolit esittävät useita toiminnan vilkkauksia. Glukoosinkulutus on kesäolosuhteissa ajoittain hyvin vilkasta, mutta aina välillä esiintyy häiriöitä. V_{max} heilahtelee tuntuvasti. P 1 on ainoa paikka läntisellä Paltaselällä, jossa biotoiminta kesälläkin vain anaerobisissa olosuhteissa yltää maksimaalisiin arvoihin.

Taulukossa n:o 1 on nähtävänä p 1:n ja p 41:n entsyymikineettisen kulutuksen vertailu anaerobisissa ja aerobisissa olosuhteissa.

Taulukko 1.

Glukoosinotto pisteissä 1 ja 41 aerobisissa ja anaerobisissa olosuhteissa.

aerob.				anaerob.			
p 1		p 41		p 1		p 41	
V_{max} :	T_t :	V_{max} :	T_t :	V_{max} :	T_t :	V_{max} :	T_t :
0,00115	112	0,0166	4,0	0,876	0,9	0,0008	60

Glukoosin aerobista/anaerobista ottoa koskevia tutkimuksia tehtiin tarkistusmielessä samanaikaisesti kaikissa Paltaselän tällä osalla sijaitsevilla näytteenottopaikoissa. Anaerobisen koejärjestelyn tärkeys käy esille taulukosta 1. Aerobisissa olosuhteissa pohjalietebakteereiden toimintavilkkkaus on p 1:ssä huomattavasti vähäisempää kuin muissa paikoissa; siten tehtäisiin aerobisissa olosuhteissa biotoiminnan virhearviointi, toisaalta toiminnan vilkkkaus olisi p 41:ssä anaerobisissa olosuhteissa liian alhainen.

Päinvastoin kuin talvella, suurehko osa Paltaselän länsiosasta on kesällä jäteveden vaikutuspiirissä. Rajoittavan tekijän itäosaan päin muodostaa Karhusaaren ja Hevossaaren saarijono. Pohjan pinnanmuodostus ja Toukkasalmen läpi laskevat vedet ohjaavat virtauksen kaaren muodossa Ärjänselän suuntaan. Melko voimakas ja miltei jatkuva tuulen vaikutus sekoittaa järviveden ja jäteveden myöskin kesäkerrostuneisuuden aikana.

Kaikkien näytteenottopaikkojen pohjaliete (lukuunottamatta p 2, 3, 4, 10 ja 41:tä) sisältää runsaasti orgaanista ainesta, jonka hajottamiseen kuluu happea. P 1:ssä kehitys on edennyt jo niin pitkälle, että vallitsee jatkuva anaerobia.

P 37 poikkeaa edellisistä, sillä tällä kohden on usein mitattu hyvin alhaisia toiminnan vilkkauksia.

P 1:ssä, p 33 - 36:ssa ja p 41, 42:ssa glukoosinotto on aina suurta. Koesubstraatti on senmukaisesti hyvin soveltuvaa; glukoosinotto tapahtuu spontaanisti, kuten lyhytaikaiskokeista käy ilmi.

Äärimmäisen lyhyen T_t :n perusteella voidaan päätellä, että kysymyksessä on ravinteiden ylitarjonta ja bakteerit ovat mukautuneet korkeisiin substraattipitoisuuksiin. Jään peittäessä järven pitkähkön aikaa (helmi- huhtikuun väli) pohjalietteen toiminta on alentunut. Toiminnan aleneminen on seurausta lämpötilan vaikutuksesta entsyymikineettisiin reaktioihin. P 1, 34 ja 35:n kohdalla muutokset talvella ovat suurimmat.

Talvella olosuhteet p 1:ssä ovat kuitenkin yhtä anaerobisia kuin kesälläkin. Kulutusta ehkäisevää vaikutusta ei siis voida panna jääpeitteen ja hapenvajauksen syyksi. Voidaan vain päätellä, että ravinteiden ylitarjonta johtaa alhaisissa lämpötiloissa vallitsevan hajoamisen vaikuttaessa ottomekanismien häiriintymiseen.

Ajoittaisia häiriöitä esiintyy p 35:ssä.

Tyypillistä on, ettei ottomekanismien häiriöitä esiinny kesällä eikä talvella muissa osissa kuin Paltaselän länsiosassa, Paltajärvessä, Sokajärvessä ja Kajaanijoessa.

3.2.4. Paltaselkä, itäosa

Paltaselän itäosa (kts. kartta 2) eroaa oleellisesti länsiosasta. Itäosan keskisyvyys on pienempi, Kajaani Oy:n ja Kajaanin kunnallisten jätevesien vaikutusta ei ole havaittavissa. Oulujärveen laskevat vesistöt tuovat vetensä tähän osaan. Mustaksi värjäytyneitä pohjalietteen tavataan vain p 5:ssä ja p 7:ssä. Kartalle ei ole merkitty Mieslahtea eikä Jormuanlahtea. Molemmissa mainituissa paikoissa 0 - 1 cm:n vahvuisen pohjalietekerrostuman biotoiminta

Paltaselkä

Tevä-

saari

$\bullet \circ \times (-)$
8

$\bullet \circ \times 6$

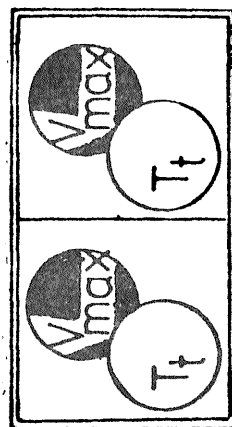
$\bullet \circ \times 7$

$\bullet \circ \times 5$

$\bullet \circ \times 9$

$\bullet \circ \times 10$

Kesä Talvi



Kartta

33

Kartan symbolien selitykset sivulla 26

on hyvin vähäistä. Vain Mieslahdessa, sen syvimmässä kohdassa (10 m) on hieman vilkkaampaa toimintaa kuin ympärillä. Varislahdessa toiminta on yhtä vähäistä, T_t vaihtelee välillä 100 ja 600 h.

V_{\max} ja T_t arvot ovat kuitenkin yleensä itäosassa paljon alemmalla tasolla kuin länsiosassa. Selvin ero on $(K_t + S_n)$ -arvoissa. Siksi selittyy, että esim. p 5:ssä substraatin kiertonopeus on 2 - 6 h (kesällä), vaikka V_{\max} on pienempi kuin Paltaselän länsiosan V_{\max} arvot vastaavilla kiertonopeuksilla. Talvella toimintavilkkäus on selvästi alhaisempaa. Suurin ero muodostuu p 7:ssä.

Koska jako kokonaispesäkelukumäärän mukaisiin vyöhykkeisiin on melko karkea, kuviossa 3 A on osittain samat vyöhykkeet kuin Paltaselän länsiosassa. Kokonaispesäkelukumäärän määrittäminen on kuitenkin itäosassa vaikeutunut ja epätarkkaa, sillä ylin pohjaliete-kerrostuma muodostuu hyvin irtonaisesta ja ruskeaksi värjäytyneestä aineksesta.

Tutkimuksen kuluessa tämän kerroksen vahvuus heilahteli varsinkin kesällä, mikä aiheutti suuren hajonnan kokonaispesäkelukumääriin.

3.2.5. Ärjänselkä

Läntiseltä Paltaselältä virta vie Toukansalmen kautta Ärjänselälle. Toukansalmen tienoilla on laajoja hiekkapohjia, jotka tekevät näytteenoton vaikeaksi tai osittain mahdottomaksi.

Virran tarkasta kulusta Ärjänselällä ei tiedetä mitään. Sen voidaan kuitenkin otaksua kulkevan melko suoraviivaisesti Alassalmen suuntaan.

Ärjänselkä voidaan parhaiten jakaa kolmeen eri alueeseen: keskiosaa, jota rajoittavat Ärjänsaari, Munaluoto ja Alassalmen suu.

Pohjoisosa Manamansalon ja Neuvosenniemen välillä, missä ei ole todettavissa jäteveden vaikutusta.

Käkilahden, Vuottolahden ja Ärjänsaaren eteläpuolisen alueen muodostama eteläosa.

Keskiosassa, p 56:ssa (kartta 3), K_t -arvo on sama kuin p 41, 42:ssa mutta V_{\max} on alhaisempi.

V_{\max} kohoaa (tietyissä olosuhteissa) bakteerien määrän myötä.

P 56:ssa kokonaispesäkelukumäärä on oleellisesti pienempi kuin lähistöllä sijaitsevissa paikoissa. Kartoista 3 ja 4 käy ilmi, että linjalla p 47 - 49, 60, 61, 63, 66, 67, on mitattu ympäristöön nähden olennaisesti suurempaa glukosinottoa. Samalla voidaan todeta muutos siirryttäessä Paltaselältä tämän linjan yli p 67:ään (tai p 68:aan, kartta 6).

Tämän linjan sisäpuolella on eräillä yksittäisillä pisteillä mitattu kauttaaltaan erilaisia ($K_t + S_n$)-arvoja. Toisin sanoen, muutos ei ole niin selvä kuin kartoista 3 ja 4 käy ilmi. Koska kuitenkin toisaalta V_{\max} ja T_t osoittavat tämän linjan ulkopuolella sijaitsevissa pisteissä huomattavan erilaista, alempaa biotoiminnan tasoa, on oikeutettua puhua tästä muutoksesta.

Tämän linjan pohjoispuolella sijaitsevissa näytteenottopaikoissa glukosinotto yltää samalla tasolle kuin etelämpänä, vain T_t -arvot ovat pienempiä. Sitä vastoin keskiosassa moninkertaisesti kohonnut biotoiminta on suoraan verrattavissa Paltaselän länsiosan biotoimintaan.

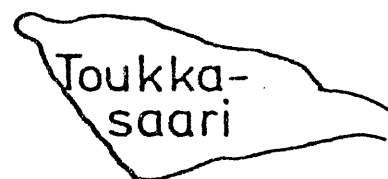
3

x 44



x49

x50(?)



x48

x47

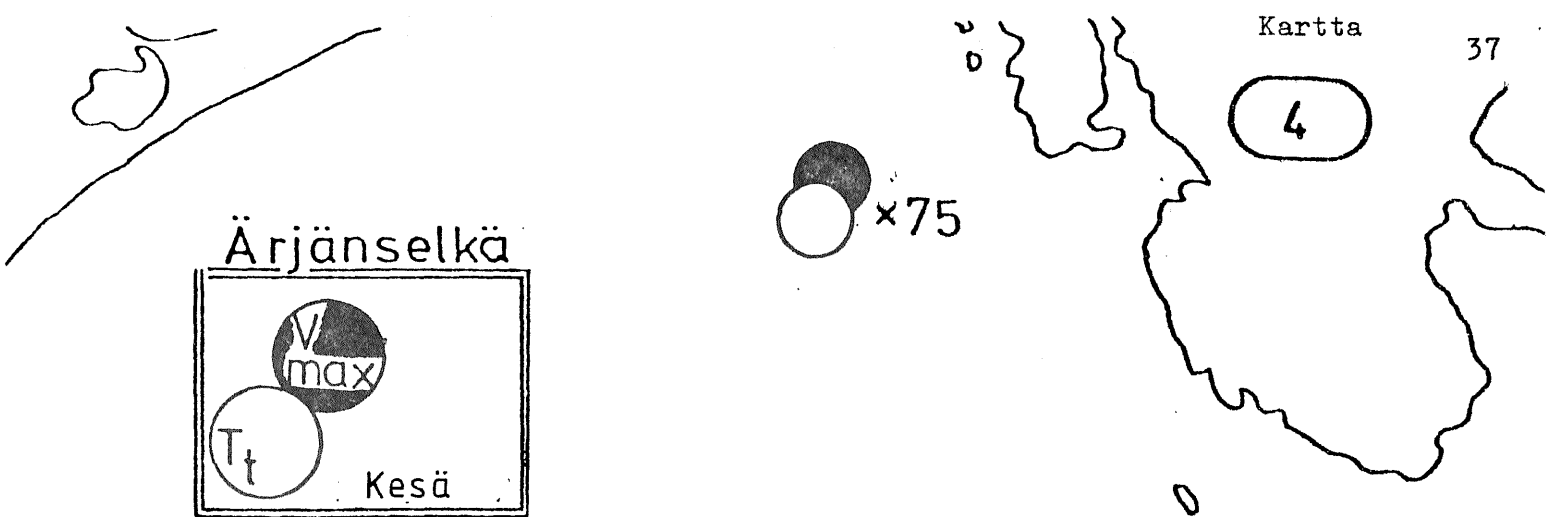
x56(-)



x55(-)

x53

Kesä	Talvi



x76

Munaluoto

x74

x65

x63

x60

x61

x64

(-) x62

x67

x66

x78

(-) x73

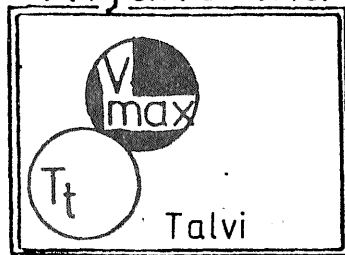
(-) x69

x72

x71

x70

Ärjänselkä

 $(-)\times 75$

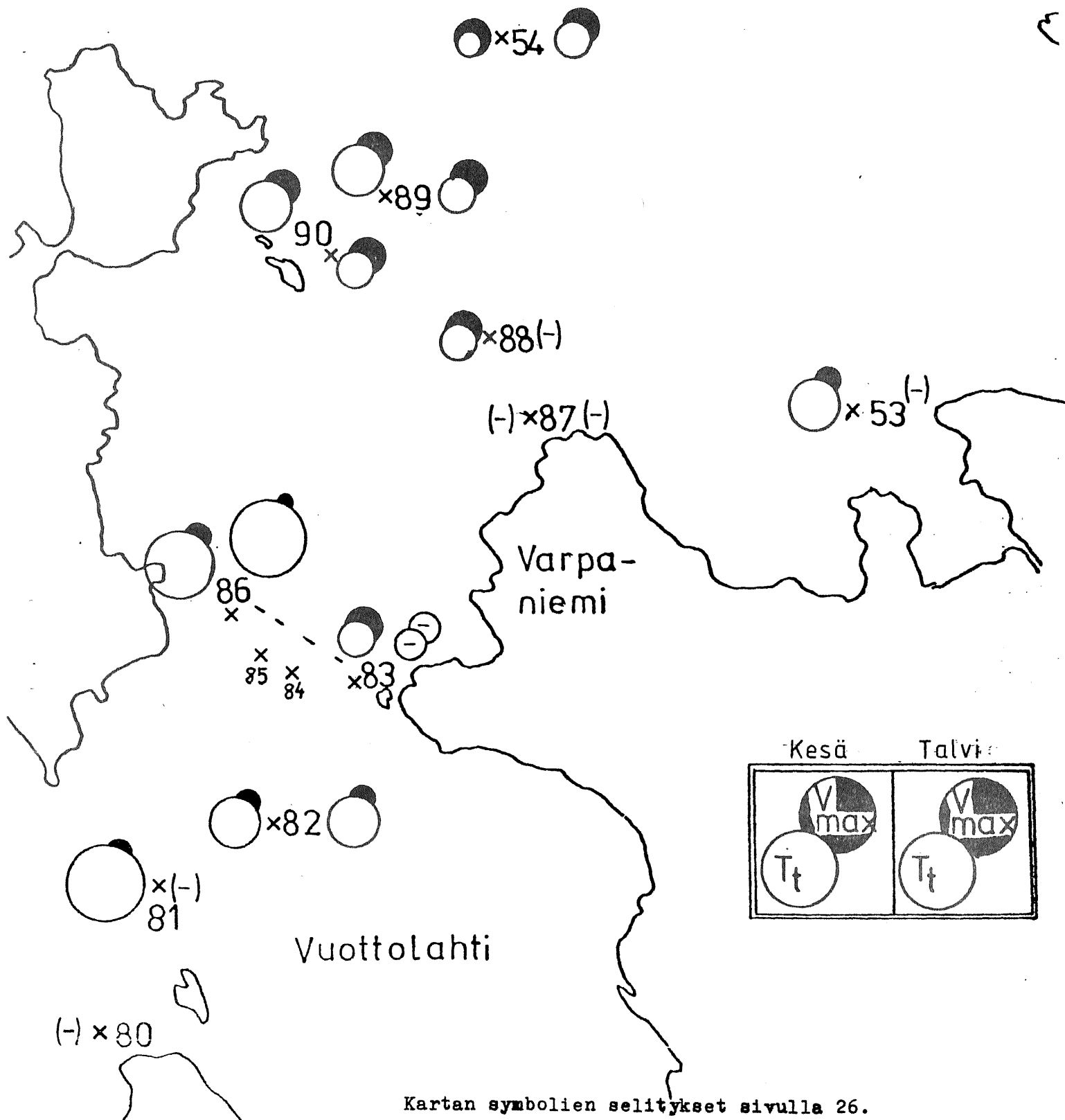
4

 $(-)\times 76$ 

Munaluoto

 $\times 74$ $(-)\times 65$ $\times 63$ $\times 60$ $\times 61$ $(-)\times 64$ $\times 62$ $(-)\times 66$ $\times 67$ $\times 73$ $\times 78$ $(-)\times 72$ $(-)\times 69$ $(-)\times 71$ $\times 70$

Uupunut



6

x79

x68(-)

Ärjänselkä

Käkisaari

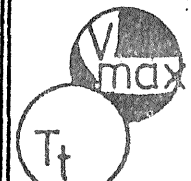
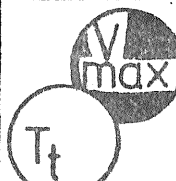
x92(-)

x91(-)

x93

Kesä

Talvi

Kesä	Talvi
	

Talviolosuhteissa V_{\max} - ja T_t -arvot osoittavat olennaista biotoiminnan hidastumista. Ero on suurin p 60:ssä.

P 60 on sikäli poikkeus, etteivät talvella anaerobiset eivätkä aerobiset koeolosuhteet ilmeisestikään ole optimaalisia.

Muiden näytteidenottopaikkojen kaavasta pohjalietteen toiminta poikkeaa p 63:ssa talvella. Sitä tosiseikkaa, että V_{\max} on talvella kohonnut, ei voida kiistattomasti selittää.

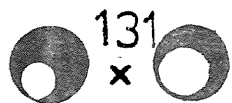
Vähäisintä pohjalietteen toiminta Ärjänselällä on Käkilahdessa (kartta 6, p 91 - 93).

Vuottolahti on suhteellisen matalaa. Toiminnot ovat vähäisempiä kuin Paltaselän itäosassa. P 83:ssa ei ajoittain tapahtunut ylipäänsä lainkaan glukosinottoa, minkä voitiin katsoa johtuvan pohjalietteen päälle varastoituneesta Rautaruukki Oy:n mineraaliliejusta. Vuottoniemen itäpuolella sijaitsevilla näytteenottopaikoissa todettiin Vuottolahteen nähden kohonnutta toimintaa, ennen kaikkea talvella. P 55 ja p 45 (Ärjänsaaren kaakkoispuolella) ovat suoraan verrattavissa viimeksimainittuihin näytteenottopaikkoihin.

3.2.6. Niskanselkä

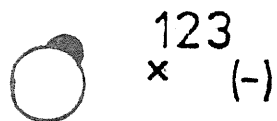
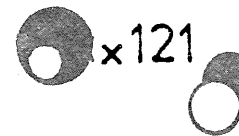
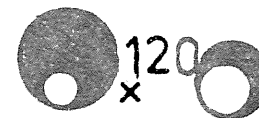
Niskanselän näytteenottopaikkojen lukumäärä on suhteellisen pieni. Yleensä glukosinotto on vähemmän vilkasta kuin Ärjänselällä (keskiosassa).

Vain suuremmissa syvänteissä toiminta on hieman kohonnutta (p 121, 120, 128, kartat 7 ja 8). $(K_t + S_n)$ -arvojen eroja on olemassa kolmen mainitun paikan ja p 131:n välillä. P 131:ssä arvo on

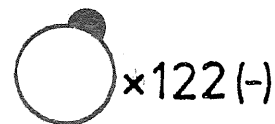


7

Kesä	Talvi



Ykspisto



Haiskinselkä

Kartan symbolien selitykset sivulla 26.

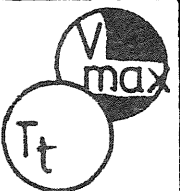
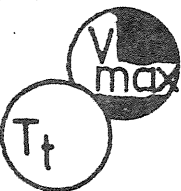
Manamosalo

130(-)
x

8

x126

Niskanselkä

Kesä	Talvi
	

Kaarre:
salo

127(-)
x

128(-)
x

124
x

Kartan symbolien selitykset sivulla 26.

olennaisesti korkeampi, minkä voidaan katsoa johtuvan S_n :n kasvusta. P 131:tä koskevien entsyymikineettisten lukujen käyttö ei useinkaan ollut mahdollista, sillä voimakkaan kaakosta tulevan tuulen vaikutuksesta tuloksissa esiintyi liiallista hajontaa. Jäteveden vaikutusta on ilmeisesti ainoastaan tällä pisteellä.

Talvea koskevia tuloksia on vain p 120, 121, 134 ja 126:sta. Kuten kesälläkin vilkkainta toimintaa on talvella mitattu p 120:ssä ja 121:ssä. Koeolosuhteet ovat talvella molemmissa paikoissa anaerobiset. Harvoista näytteidenottopaikoista huolimatta voidaan Niskanselän suhteen sanoa glukosinoton olevan pienempää kuin järven muissa osissa. Sitä selittää myöskin alhainen $(K_t + S_n)$ -arvo, joka osoittaa bakteereiden olevan mukautuneita pieniin substraattipitoisuuksiin.

Kaikissa Niskanselkää (aina p 131:tä myöten) koskevissa koejärjestelyissä lisättiin ¹⁴C-glukoosia 1:10 laimennettuna ja mitattiin siten optimaalisia arvoja.

3.3. Fosfataasiaktiviteetti

3.3.1. Kajaaninjoki, Paltajärvi, Sokajärvi

Kajaaninjoen ja Paltajärven kohdalla kysymyksessä on virtaava vesi. Pohjaliete on, kuten jo aiemmin mainittiin, täysin epäluonnollista johtuen metrin vahvuista kuitukasautumista.

Fosfataasitoiminnot olivat erittäin vähäisiä, eikä niitä useimmiten ylipäänsä voitu osoittaa (taulukko 2).

Taulukko 2. Sedimentin fosfataasiaktiviteetti

Keskiarvot 1974 - 1975 ajanjaksolle kesä-elokuu.

Näytteen- ottopiste	nMol pNP kg TL ⁻¹ min ⁻¹	Näytteen- ottopiste	nMol pNP kg TL ⁻¹ min ⁻¹
<u>Kajaaninjoki, Paltajärvi</u>		<u>Ärjänselkä</u>	
P 22	0	P 49	50
P 23	0	P 48	110
P 24	0	P 56	35
P 31	5	P 60	50
P 28	9	P 78	300
		P 70	110
		P 76	30
		P 61	210
<u>Paltaselkä, länsiosa</u>		P 62	240
P 2	9	P 63	160
P 3	12	P 67	300
P 4	10	P 68	160
P 33	100	P 74	140
P 34	95	P 64	270
P 1	90		
P 35	40	<u>Vuottolahti</u>	
P 37	20	P 82	5
P 42	40	P 83	0 (10)
P 40	10	P 89	80
P 44	36		
<u>Paltaselkä, itäosa</u>		<u>Käkilahti</u>	
P 5	8	P 91	60
P 6	15	P 92	90
P 7	45	P 93	50
P 8	25		
P 9	60		
P 10	60		
<u>Sokajärvi</u>		<u>Niskanselkä</u>	
P 95	110	P 120	50
P 96	430	P 122	5
P 97	350	P 123	42
P 98	320	P 130	0
		P 131	250
		P 128	100
		P 127	40
		P 129	10
		P 125	0
		P 121	43

Taulukko 2. Jatkuu

Keskiarvot 1974 - 1975, jääpeitteen aikana

Näytteen- ottopiste	nMol pNP kg TL ⁻¹ min ⁻¹	Näytteen- ottopiste	nMol pNP kg TL ⁻¹ min ⁻¹
<u>Kajaaninjoki, Paltajärvi</u>		<u>Ärjänselkä</u>	
P 22	0	P 49	40
P 29	0	P 48	145
		P 60	35
		P 78	260
		P 70	90
		P 61	170
		P 62	230
		P 63	130
		P 67	260
		P 68	135
		P 74	110
		P 64	210
<u>Paltaselkä, länsiosa</u>		<u>Vuottolahti</u>	
P 2	6	P 82	1
P 3	8	P 83	1
P 4	7	P 85	7
P 33	83	P 89	60
P 34	78		
P 1	75		
P 35	25		
P 37	12		
P 40	30		
P 42	5		
P 44	27		
<u>Paltaselkä, itäosa</u>		<u>Käkilahti</u>	
P 5	5	P 91	45
P 6	9	P 92	50
P 7	30		
P 10	35		
<u>Sokajärvi</u>		<u>Niskanselkä</u>	
P 95	25	P 122	3
P 96	200	P 123	30
P 97	250	P 120	40
P 98	170	P 128	70
		P 124	12
		P 130	0
		P 131	175

Kajaani Oy:n aiheuttama jätevesikuormitus ja pohjalietteen anaerobinen tila aiheuttavat todennäköisesti fosfataasitoiminnan inhiboitumisen näillä alueilla.

Täysin toisin on sitävastoin Sokajärven pohjalietteen laita. Sokajärvestä on merkitty koko tutkimusalueen vilkkaimmat toiminnot. Näytteenottopaikoissa p 96, 97 ja 98 toiminta kesäkuukausina oli keskimäärin 300 - 400 nMol/kg (TL)/min.

P 95:ssä toiminta oli oleellisesti pienempää. Tosin pohjaliete on täällä hiekkaista ja bakteerien määrä on olennaisesti pienempi.

Talvella toiminnan taso yleensä laskee, aivan erityisesti p 96:ssa. P 96 on Sokajärven syvin kohta (10 m), jossa usein talvella esiintyy täydellistä happikatoa. Sokajärven kohonnutta fosfataasitoimintaa voidaan tuskin panna Kajaani Oy:n jätevesien syyksi, pikemminkin sen aiheuttaa rantojen asutus (kesämökit ja maatalous).

Yleispiirteiltään Sokajärvi on runsasravinteinen järvi. Kohonneet fosfataasitoiminnot edistävät Sokajärven perustuotantoa siten, että perustuottajien käyttöön tulee epäorgaanista fosfaattia.

3.3.2. Paltaselkä

Glukoosinoton perusteella Paltaselkä voidaan selvästi jakaa kahteen alueeseen, itä- ja länsiosiin, joista jälkimmäisessä tavattiin selvästi vilkkaimmat toiminnot.

Yleensä fosfataasitoiminnan taso on koko Paltaselällä suhteellisen

alhainen, tässä suhteessa sitä voi verrata Niskanselkään.

Paltaselällä oli vain kolme vyöhykettä, joissa toiminta oli hieman kohonnut, länsiosassa näytteenottopaikoissa p 33, 34 ja 1, itäosassa p 5:ssä ja Paltamon edustalla p 9:ssä ja 10:ssä.

Fosfataasitoimintojen taso oli koko Paltaselällä 10 - 50 nMol/kg (TL)/min:ssa paikkeilla, edellä mainituilla vyöhykkeillä 50 - 100 nMol/kg (TL/min.

Paltamon edustalla olevien näytteenottopaikkojen kohonneen fosfataasiaktiviteetin selittää orgaanisten jätevesien aiheuttama kuormitus ja Hyrynsalmen reitiltä tuleva ravinteiden lisäys. Pisteellä 5 vallitsevat toisenlaiset olosuhteet. Vaikka täälläkin vallitsee länsisuuntainen virtaus ja sen myötä myöskin ravinteita kulkeutuu paikalle, on aktiviteetin lisääntyminen niin suurta, että ravinnevaikutus ei sitä yksin selitä. Koska p 5:ssä järvi on paljon syvempi kuin muissa näytteenottopaikoissa, syynä voi olla ns. suppiloeffekti.

Länsiosassa p 33, 34 ja 1:ssä on kysymyksessä vyöhyke, jossa glukoosinotto osoitti kohonnutta biotoimintaa. P 1:ssä vallitsevat anaerobiset olosuhteet, minkä fosfataasitoiminnan kannalta pitäisi merkitä toiminnan lamaantumista. Todellisuudessa näiden kolmen näytteenottopaikan välillä ei kuitenkaan todettu fosfataasitoiminnassa oleellisia eroja.

Koko Paltaselällä toiminta väheni jääpeitteen aikana n. 30 - 35 %. Vyöhykkeillä, joilla toiminta oli kohonnut, arvo oli 10 - 20 %.

Koko tutkimusajanjaksona saatiin Paltaselän toiminnoista suhteellisen vakioisia arvoja. Suurempia heilahteluja esiintyi vain p 1:ssä. P 1:n tuloksia on kuitenkin tarkasteltava kriittisesti, koska koeolosuhteet olivat fosfataasitoiminnan kannalta kaiken aikaa aerobisia. Täten luonnonmukaiset ja laboratorio-olosuhteet erosivat oleellisesti toisistaan.

5.3.3. Ärjänselkä

Suurimmassa osassa Ärjänselkää fosfataasitoiminnan taso oli kuten Paltaselälläkin 10 - 50 nMol/kg (TL)/min. Vyöhykkeet, joilla toiminta oli vilkastunutta, olivat pinta-alaltaan tosin oleellisesti suurempia kuin Paltaselällä ja erosivat keskenäänkin vielä tasoltaan.

Pisteiden 68, 63, 48 ja 70 rajoittamasta Ärjänselän keskiosasta todettiin keskimääräiseksi fosfataasitoiminnaksi 100 - 200 nMol/kg (TL)/min. Sama keskiarvo saatiin myös p 74:ssä, joka kuitenkin sijaitsee keskiosasta erillään kauempana pohjoisessa. Talviolosuhteissa toiminta aleni 10 - 20 %. Keskivyöhykkeen sisäpuolella oli kolme keskusta, pisteet 67, 62 ja 64 sekä 78, joissa toiminta oli kohonnut. Näillä pisteillä toiminnan taso vaihteli 200 ja 300 nMol/kg (TL)/min. välillä. Keskukset, joissa esiintyi vilkkainta toimintaa, sijaitsivat itä-länsiakselilla, ilmeisesti päävirran juoksussa. Näiden keskusten sisäpuolella talviarvot putosivat n. 10 %.

Kolmantena vyöhykkeenä, jossa taso on 50-100 nMol/kg (TL)/min, voitiin selvästi erottaa Vuolijoen luona Käkilahdessa pisteet 91 ja

92, Vuottolahden pohjoispuolella pisteet 88 ja 89, sekä Ärjän-
saaren itäpuolella p 45.

Vuottolahdessa mitattiin pisteillä 80 - 82 vain aivan vähäistä
toimintaa, enimmäkseen 5- 10 nMol/kg(TL)/min.

3.3.4. Niskanselkä

Yleensä toiminnan taso oli Niskanselällä tasaisen alhaista,
10 - 50 nMol/kg (TL)/min. Näiden rajojen sisäpuolella liikkui-
vat sekä kesä- että talvikuukausien arvot. Talviarvot olivat kuten
Paltaselälläkin 30 - 35 % alhaisemmat. Hiekkaisista pohjalietteistä,
jotka Niskanselällä ovat tavallisia, ei useimmiten voitu mitata
minkäänlaista toimintaa. Aivan selvästi erottui kuitenkin kaksi pis-
tettä, joissa toiminta oli vilkastunut: pisteessä 131 n. 200 nMol/kg
(TL)/min. (vuoden keskiarvo) ja pisteessä 128 n. 100 nMol/kg
(TL)/min. (vuoden keskiarvo).

Molemmilla pisteillä biotoiminta oli myös glukoosinoton perusteella
vilkkaampaa kuin niiden ympäristössä. Pisteessä 131 kohonneen akti-
viteetin syynä on todennäköisesti jätevesikuormitus, mutta sama ei
päde pisteeseen 128 kohdalla. Koska myös muissa näytteenottopaikoissa,
kuten p 120, 121, 124 ja 127:ssä on syvempää, ei toiminnan vilkastu-
misen voida olettaa johtuvan suppiloefektistä.

3.4. Dehydrogenaasiaktiviteetti

3.4.1. Kajaaninjoki, Paltajärvi

Kajaaninjoki, Paltajärvi alueen pohjalietteen erityispiirteisiin

on paneuduttu laajalti jo aikaisemmin. Bakterimäärät saavuttivat täällä ylimpiä arvojaan, erityisesti Kajaaninjoen suurimmissa syvänteissä Kajaani Oy:n alapuolella ja Paltajärvessä.

Samanaikaisesti kun glukosinotossa ja fosfataasiaktiviteetissa esiintyi häiriöitä ja inhibioita, voitiin TTC-menetelmää käyttää vaikeuksitta. Rannanläheisissä pohjalietteissä, missä syvenee suhteellisen nopeasti, kuidun varastoituminen on oleellisesti vähäisempää ja bakterimäärät ja dehydrogenaasiaktiviteetti vastaavasti myös vähäisempää. Dehydrogenaasiaktiviteetit on esitetty taulukossa 3.

Pisteissä 26 ja 31 ilmeni glukosinotossa alituiseen häiriöitä, mutta TTC-menetelmässä niitä ei esiintynyt. Toisaalta formatsaanin arvot eivät yltäneet maksimiin kuin pisteissä 22 ja 24. Sokajärvessä pisteessä 95 formatsaanin muodostuminen oli vähäistä. Sitävastoin pisteissä 96 ja 98 toiminta oli vilkasta.

Glukosinoton ja fosfataasiaktiviteetin perusteella biotoiminta oli talvella selvästi vähentynyt, mikä päti myöskin TTC-menetelmän tuloksiin nähden, mutta vuodenaikojen välinen ero oli TTC-menetelmässä oleellisesti pienempi. Kesä- ja talviarvojen ero oli korkeintaan 10 %.

3.4.2. Paltaselkä

Paltaselän länsiosan dehydrogenaasiaktiviteetti oli suurimmassa osassa aluetta kohonnut. Poikkeuksia muodostivat näytteenottopaikat 2, 3, 4 ja 37. Kohonneen toiminnan alue ulottuu Hietalahteen

Taulukko 3.

Pohjalietteen TTC-dehydrogenaatio ug formatsaania/g TL/24 h, 25°C:ssa.
Keskiarvot 1974-75 kesä.

Näytteen- ottopiste	ug formatsaania	Näytteen- ottopiste	ug formatsaania
P 22	16,2	P 95	0,7
P 23	4,0	P 96	5,2
P 24	12,8	P 98	5,8
P 26	7,6		
P 31	6,5		
		P 1	12,0
P 2	1,0	P 35	8,5
P 3	0,8	P 37	0,9
P 4	2,1	P 42	4,3
P 33	6,3	P 40	0,6
P 34	7,0	P 44	4,2
P 5	5,4	P 8	0,8
P 6	2,6	P 9	0,8
P 7	4,0	P 10	2,1
P 49	0,5	P 61	6,5
P 48	5,5	P 62	2,0
P 56	2,7	P 63	7,0
P 60	6,4	P 67	5,0
P 78	5,6	P 68	7,0
P 70	2,0	P 74	4,5
P 76	2,0		
P 82	0,2	P 91	0,9
P 85	0,8	P 92	2,1
P 89	1,7	P 93	1,5
P 120	1,5	P 128	2,8
P 122	0,2	P 127	1,1
P 123	0,4	P 126	0,8
P 130	0,6	P 129	0,6
P 131	3,7	P 125	0,3

saakka, pisteelle 44. Siten dehydrogenaasiaktiviteettia koskevat tulokset poikkeavat muilla menetelmillä saaduista tuloksista.

Formatsaanin muodostuksen maksimi saavutettiin pisteessä 1.

Samanaikaisesti kun läntisellä Paltaselällä aina rannanläheisiä ja hiekkaisia pohjalietteitä myöten oli mitattu vilkasta toimintaa, itäosassa havaittiin vain tiettyjä alueita, joilla toiminta oli kohonnut. Yleensä taso oli huomattavasti alhaisempi kuin länsiosassa. Nämä tulokset sopivat yhteen glukoosi- ja fosfataasimenetelmillä saatujen tulosten kanssa. Kohonneita dehydrogenaasiaktiviteetteja havaittiin pisteillä 5, 7 ja 10. Myös Mieslahdessa 7 m:n syvyydessä oli todettavissa aktiviteetin kohoamista. Mieslahden osalta ei kuitenkaan ole käytettävissä biologisia vertailutietoja. Ainoa vertailutieto on alueen kohonnut kokonaispesäkelukumäärä. Yleisesti voidaan myös itäisellä Paltaselällä todeta yhdenmukaisuutta formatsaaninmuodostuksen ja bakteerimäärien välillä.

3.4.3. Ärjänselkä

Ärjänselällä dehydrogenaasiaktiviteetti antoi glukoosi- ja fosfataasimenetelmiä vastaavia tuloksia. Itä-länsi suunnassa Ärjänsaaresta Alassalmelle ulottuvalla kapeikolla olivat näytteenottopaikat, joissa esiintyi formatsaanimaksimit: pisteet 48, 60, 61, 63, 67, 74 ja 78.

Kuten fosfataasiaktiviteetissa niin myös dehydrogenaasiaktiviteetissa oli todettavissa kohonneita arvoja Käkilahdessa ja Vuottolahden pohjoispuolella. Itse Vuottolahdessa dehydrogenaasiaktiviteetin taso oli suhteellisen alhainen. Pisteissä 83 ja 80 ei ajoittain

(talvella 1974) ollut todettavissa minkäänlaista aktiviteettia (mineraaliliejä).

Ärjänselän pohjalietteessä formatsaaninmuodostus on suurimmassa osassa kohonnutta. Pohjaliete ei täten oleellisesti eroa toiminnan suhteen läntisen Paltaselän pohjalietteestä, vaikkakaan se ei yllä aivan samalle tasolle.

3.4.4. Niskanselkä

Niskanselällä dehydrogenaasiaktiviteetti oli yleisesti selvästi Ärjänselän tason alapuolella.

Jo tunnetut näytteenottopaikat, pisteet 131 ja 128, muodostivat poikkeuksen.

Niskanselältä oli käytössä vähemmän tietoja kuin muilta alueilta. Koska tulokset kuitenkin käyvät yksiin muilla menetelmillä saatujen tulosten kanssa, voidaan tätäkin, määrältään vähäistä aineistoa, käyttää kuvaamaan tilannetta Niskanselällä.

Niskanselän kuten ei Ärjänselänkään kohdalla ollut olennaisia eroja kesä- ja talviarvojen välillä. Kokeissa käytetty lämpötila oli kaikkina vuodenaikoina sama.

3.5. Oulujärveen laskevat vesistöt

Oulujärveen laskevat vesistöt, Sotkamon reitti ja Hyrynsalmen reitti otettiin mukaan Oulujärven tutkimuksiin, koska niiden oli määrä toimia pohjana Oulujärven tilaa arvioitaessa. Näihin vesistöihin ei lasketa jätevesiä samassa mittasuhteessa kuin Oulujärveen.

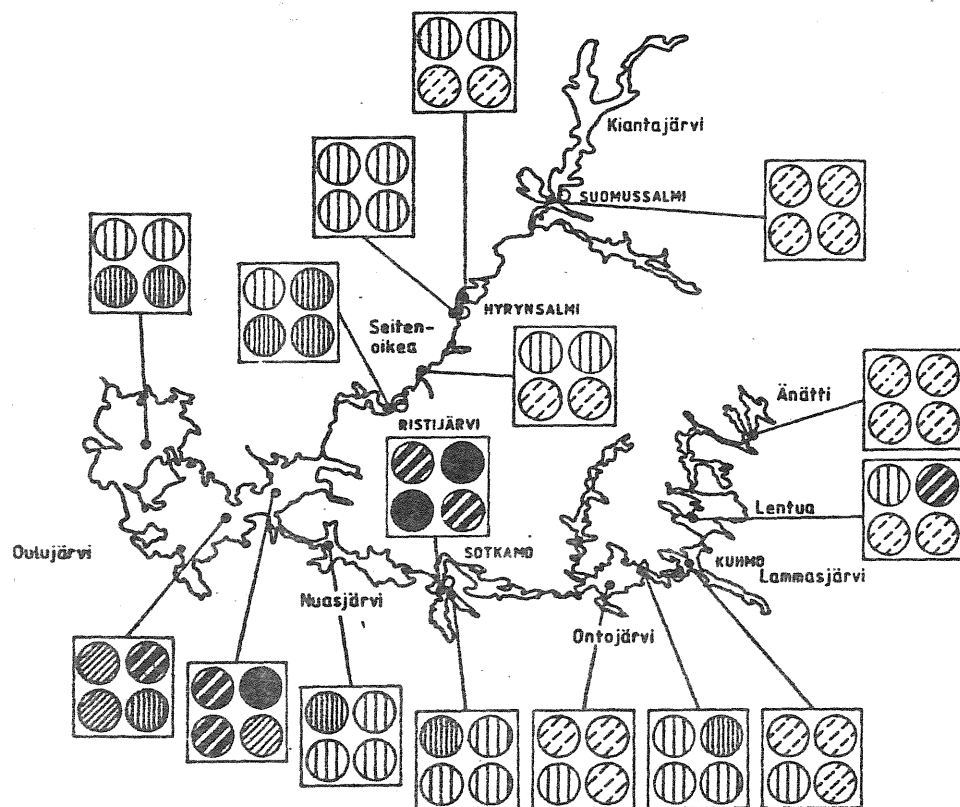
Ko. vesistöjä koskevat tutkimukset suoritettiin kesällä 1975.

Näyteaineisto oli vähäistä, mikä osittain johtui pitkistä välimatkoista, mutta myös siitä, että tutkija joutui käytännössä yksin suorittamaan näytteidenoton, venekuljetukset jne.

3.5.1. Sotkamon reitti

Sotkamon reitiltä näytteitä otettiin Oulujärveltä lähtien Rehjanselältä, Sotkamon alapuolelta sekä Sotkamon meijerin edustalta, Ontojärven keskeltä, Kuhmon ala- ja yläpuolelta, Lentuasta läheltä Kinnulaa ja Änättijärven eteläkärjestä. Tulokset on esitetty yhteenvetona kuvassa 4. Vertailun vuoksi on Oulujärveltä kuvattu seuraavat näytepisteet: piste 1 Paltaselältä, piste 60 Ärjänselältä ja piste 120 Niskanselältä.

Sotkamon reitillä, Sotkamon meijerin likaviemärin välittömässä läheisyydessä oleva alue poikkesi huomattavasti muista alueista. Pohjalietteen ja veden tila oli katastrofaalisen heikko, heikoin kaikista näytteenottopaikoista Oulujärvi ja Kajaaninjoki mukaanlukien.



T_t	GKZ	TTC	pNP
0	$12-50 \times 10^6$	- 16	
0,01 - 0,05	$1-12 \times 10^6$	8 - 16	300 - 400
0,05 - 1,5	$1-5 \times 10^6$	4 - 8	100 - 300
1,5 - 3,5	$1-8 \times 10^5$	1,5 - 4	100 - 200
3,5 - 100	$1-8 \times 10^4$	0,5 - 1,5	50 - 100
10 - 100	$10^3 - 10^4$	0,1 - 0,5	10 - 50



T_t = glukosin kiertoaika
 TTC = dehydrogenaasiaktiiviteetti
 GKZ = kokonaispesäkelukumäärä
 pNP = fosfataasiaktiiviteetti

Kuva 4. Oulujärveen laskevien vesistöjen tila

Yleensä sekä bakteereiden kokonaispesäkelukumäärä että glukosinotto (T_t), dehydrogenaasiaktiviteetti (TTC) ja fosfataasiaktiviteetti (pNP) olivat alhaisemmalla tasolla kuin Oulujärven kuormittamattomilla vyöhykkeillä Niskanselkä mukaan lukien. Vähäravinteisin ja biotoiminnaltaan vähiten aktiivinen alue Sotkamon reitillä oli Änättijärvi. Lentuassa oli erittäin syvä kohta (51 m), joka tosin ei ollut laaja, mutta aiheutti selvän suppiloefektin. Suppiloefekti selittää myös pohjalietteen kohonneen bakteerimäärän. Kunnallisten jätevesien aiheuttama paikallinen kuormitus heijastuu Kuhmon alapuolelta ja Kuhmon yläpuolelta saatuihin tuloksiin. Vastaavasti voidaan verrata Ontojärvellä ja Sotkamon alapuolella olevia näytteenottopaikkoja (Sotkamon puhdistamo ei tutkimusajan kohtana vielä ollut käytössä). Jäteveden päästöt johtavat selvään bakteereiden kokonaispesäkelukumäärän kohoamiseen ja lyhyempään T_t :hen, siis vilkkaampaan biotoimintaan.

3.5.2. Hyrynsalmen reitti

Hyrynsalmen reitin näytteenottopaikat sijaitsivat Ristijärven alapuolella, Seitenoikean yläpuolella, Hyrynsalmen ylä- ja alapuolella sekä Kiantajärvellä.

Kiantajärvestä todettiin alhainen biotoiminnan taso: glukosin kiertoaika 80 - 90 h. Vastaavaa osoittivat myös alhaiset bakteerimäärät: bakteereiden kokonaispesäkelukumäärä = $4,5 \times 10^3$. Hyrynsalmen reitin alemmissa osissa oli todettavissa selvä biotoiminnan vilkastuminen. Hyrynsalmen yläpuolella T_t oli jo 5 - 7 h ja bakteereiden kokonaispesäkelukumäärä $4 - 8 \times 10^4$. Myöskin TTC- ja nNP-arvot olivat

kohonneet. Seitenoikeassa oli saavutettu vastaava tilanne kuin Hyrynsalmen yläpuolella.

Ristijärven alapuolella biotoiminnan taso oli edelleen kohonnut. Ristijärven yläpuolella sijaitsevasta näytteenottopaikasta on käytettävissä vain kahden havaintokerran tiedot, joten niitä ei otettu kuvioon. Suuruusluokaltaan tämän pisteen arvot vastasivat Seitenoikeasta saatuja.

Oulujärveen laskevia vesiä tutkittaessa osoittautui Sotkamon ja Hyrynsalmen reittien biotoiminnan taso melko alhaiseksi. Karuissa ja vähäravinteisissa vesissä lieväkin jätevesikuormitus vaikuttaa selvästi. Esimerkkeinä ovat taajamien alapuolella kohonneet biotoiminnot.

Vaikkakin Oulujärveen laskevat vesistöt ovat koko laajuudessaan isoja, laskevat likaviemärit tilavuudeltaan suhteellisen pieniin altaisiin, jolloin niiden merkitys on paikallisesti suuri. Suhteellisen suurista paikallisista vaikutuksista huolimatta ei voida puhua siitä, että Oulujärveen laskevien vesistöjen vedet olisivat saastuneita tai rehevöityneitä. Biotoiminnan kohoaminen osoittaa, kuinka selvästi ekosysteemi reagoi ravinteiden lisäämiseen, sitähän jätevedet merkitsevät.

4. Tulosten tarkastelu

Oulujärven kokoisen järven tilaa voidaan tutkia erilaisilla menetelmillä. Mahdollisuuksien skaala ulottuu fysikaalis-kemiallisista vesianalyyseistä perustuotannon, pohjaeläinten ja kalakannan tarkastelusta aina ravintoketjun yksityisten jäsenten bioaktiviteetin tutkimiseen.

Tässä tutkimuksessa analysoitiin pohjalietebakteereiden aktiviteettia. Bakteerit ovat tärkeä lenkki ekosysteemin toiminnassa. Bakteerien lukumäärät ovat pohjalietteessä suurempia kuin vapaassa vedessä. Pohjalietteessä kertautuvat vapaan veden tapahtumat ja se on jatkuvassa vuorovaikutuksessa viimeksi mainitun kanssa. Kunkin järven muodostama ekosysteemi on oma yksikkönsä, minkä vuoksi ei ole olemassa mitään absoluuttisia normeja, joilla järveä arvostellaan. Arvioitaessa järven tilaa voidaan yleisenä normina käyttää vain happipitoisuutta. Tällöinkään ei voida verrata absoluuttisia lukuja, vaan on otettava huomioon erillisten vesikerrostumien tilavuus. Luonnostaan on olemassa vähä- ja runsasravinteisia järviä. Järven kuormituksen kannalta ei siis ole ratkaisevaa siihen päästetyn jäteveden määrä vaan jäteveden systeemille aiheuttama tasapainon muuttuminen. Järven kuormittaminen vaikuttaa biologisiin tapahtumiin, lähinnä ravintoketjun alempiin asteisiin. Siksi pohjalietebakteereiden biologisten toimintojen tutkiminen tuntui puolustavan paikkaansa mitattaessa järven tilaa. Overbeck (1976) esim. esitti, että erilaatuiset järvet voidaan luokitella sekä bakteerien glukoosinoton vilkkauden että perustuotannon mukaan. Entsyymikineettisen glukoosinoton mukaisesti määräytyvää absoluuttista perustetta biotoiminnan tarkastelulle ei ole olemassa, saadut arvot ovat suhteellisia.

Oulujärven kokoisessa järvessä on vielä riittävästi jätevesikuormituksen ulkopuolelle jääviä alueita. Näiden alueiden toimintaa verrattiin kuormitettujen alueiden toimintaan. Toiminnan vilkastumista tavataan kaikkialta, minne jätevesiä päästetään. Jätevesien aiheuttama glukoosinoton vilkastuminen muodostuu erityisen havaittavaksi virtaavassa vedessä sekä kapealle alueelle rajoittuneeseen

seisovaan veteen kohdistuvan jätevesikuormituksen yhteydessä jäteveden ravinnepitoisuudesta riippuen. (Düsing 1973, Tiefenbrunner et.al. 1976). Äärimmäinen kuormitus johtaa biologisia tapahtumia ehkäiseviin häiriöihin, kuten ilmeni erityisesti Kajaaninjoessa.

Tässä tutkimuksessa biotoimintaa arvioitiin pääasiallisesti sen mukaan, miten glukoosia kyettiin ottamaan. Fosfataasiaktiviteetti yksinään ei anna riittävää pohjaa arvioinnille. Dehydrogenaasi-aktiviteetti liittyy ilmeisesti suoranaaisesti pohjalietteen bakteereiden lukumäärään. Mutta koska tämän työn tavoitteena ei ollut organismien lukumääräinen tarkastelu tai vertailtava epäsuora arvo, on glukoosinotto, joka voidaan mitata dynaamisina parametreinä, V_{max} :na ja T_t :nä, paras määrittäjä systeemin biotoimintaa arvioitaessa. Tällä menetelmällä voidaan laskea, missä määrin ravinnetarjontaa kyetään hyödyntämään aikayksikköä kohti.

Substraatin (glukoosin) lyhyet kiertoajat osoittavat, että jätevesikuormitus on voimakasta. Poikkeuksen muodostavat Kajaaninjoki, Paltajärvi sekä eräät osat Paltaselkää ja Sokajärveä. Näistä poikkeusalueista Kajaaninjoki erottuu olennaisesti muista erikoisen pohjalietteensä vuoksi. Sokajärvessä ja Paltaselän länsiosassa ilmenee kuitenkin vielä anaerobisissa olosuhteissakin vilkasta glukoosinottoa. Häiriöiden esiintyminen aineenvaihdunnassa osoittaa järjestelmän alkavaa ylikuormittumista.

Oulujärven glukoosinotto vaihtelee jätevesien kuormittamien vyöhykkeiden ulottuvilla esiintyvistä vilkastuneesta toiminnasta kuormittamattomien vyöhykkeiden normaaliin, vähäisempään toimintaan.

Asteittaista muutosta voi seurata Kajaaninjoen suulta Paltaselältä Ärjänselän kautta Niskanselän tai Alassalmen suuntaan. Etäisyyden viemärin suulta kasvaessa vähenevät pohjalietteen glukoosinotto, dehydrogenaasiaktiviteetti ja kokonaispesäkelukumäärä. Niillä Oulujärven alueilla, jotka eivät ole jäteveden vaikutuksen alaisina, on entsyymikineettisten parametrien arvot, V_{\max} : 0,002 - 0,01 mg/G TL/h ja T_t : 5 - 30 tuntia. Nämä ovat ns. luonnollisia alueita, jotka toimivat vertailupohjana tarkastelussa.

Alueilla, joilla toiminnot ovat vähäisempiä, on useimmiten hiekkainen pohjaliete tai ne ovat hyvin matalia. Oulujärveen laskevissa vesistöissä, Hyrynsalmen ja Sotkamon reiteillä toiminnan vilkkaustaso oli kohdissa, joissa ei ollut jätevesikuormitusta, yleisesti Oulujärven tason alapuolella.

Oulujärven suuresta pinta-alasta johtuen pohjalietteet vaihtelevat melko tavalla. Vasta huolellinen ja usein toistunut näytteidenotto mahdollisimman samankaltaiselta alueelta tekee biotoiminnan arvioinnin mahdolliseksi. Näytteidenottopaikalta saadut tiedot ovat käyttökelpoisia vain, jos ne osoittavat pitkähköllä aikavälillä vertailukelpoisia arvoja.

Koska nimenomaan Oulujärven osalta ei ollut käytettävissä vertailutietoja ja kirjallisuudestakin löytyy vain vähän vastaavanlaisia tutkimuksia, täytyi tätä tutkimusta varten koota suurehko määrä tietoja. Tuntuvat etäisyydet ja pitkät kuljetusajat ovat epäilemättä aiheuttaneet joitain muutoksia näytteissä. Tulosten tarkastelussa on huomioitava, että eri tavalla kuormitettujen vyöhykkeiden luokittelu tapahtui biotoiminnan suuruusjärjestyksen mukaan.

Koska pohjalietteen biotoiminnan avulla oli tarkoitus ennen kaikkea osoittaa jätevesikuormituksen ulottuvuus pinta-alan suhteen, on kasvaneen toimintavilkkauden ja viemärin suun ja näytteiden välisen etäisyyden suhde tärkeä. Tämä suhde käy esille selvästi saaduista tiedoista.

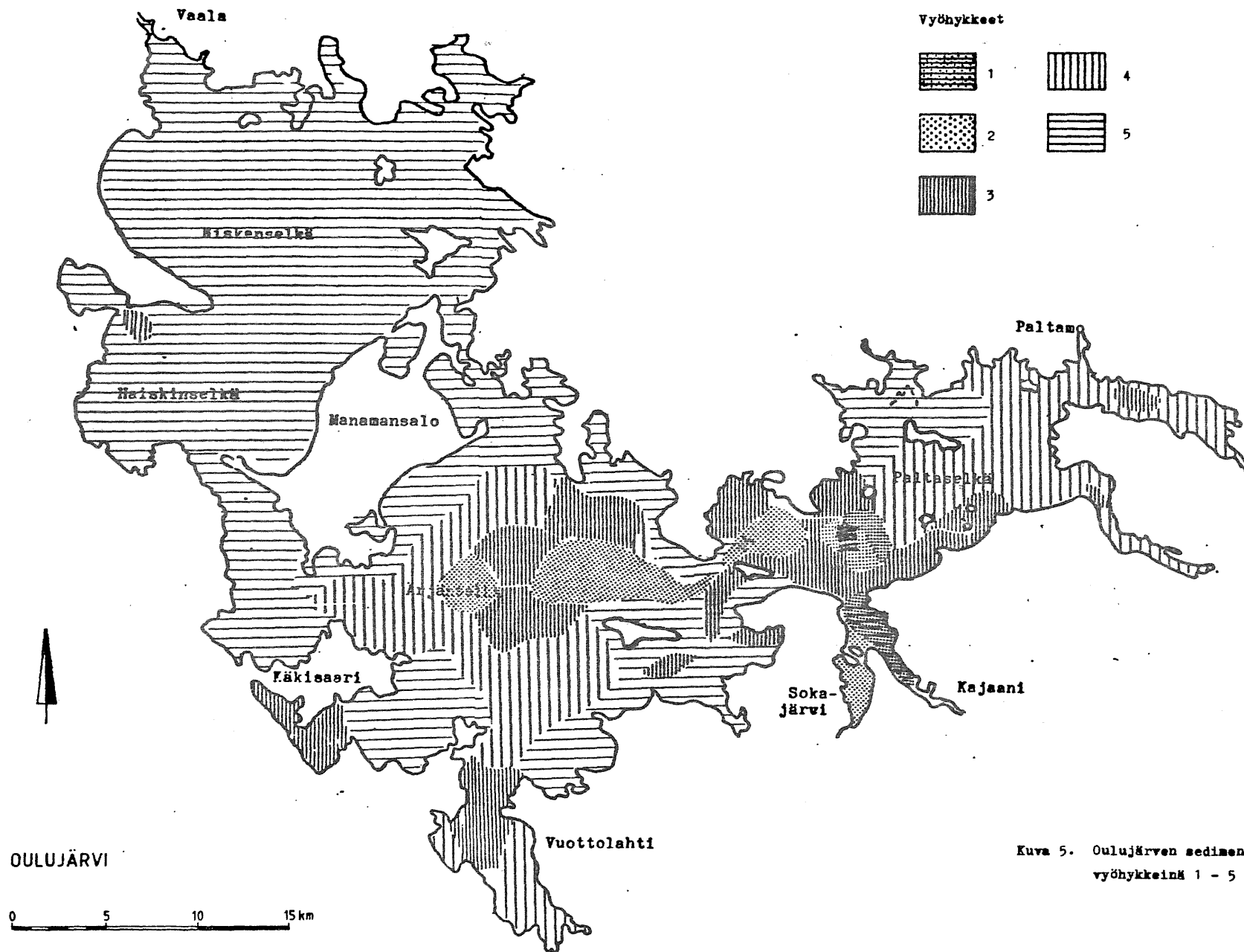
Oulujärven absoluuttista kuormitusastetta ei voida erikseen määrittää. Suhteessa Niskanselkään ja Paltaselän itäosaan biotoiminta on läntisellä Paltaselällä kohonnut moninkertaisesti. Vastaavanlaista biotoimintaa tavataan Ärjänselältä sen keskiosasta. Oulujärven saastuneisuusaste ilmenee siis pohjalietebakteereiden kohonneena biotoimintana. Ekosysteemin kannalta vaarallinen saastuneisuus on saavutettu, kun esiintyy jatkuvia häiriöitä eliöiden aineenvaihdunnassa. Näiden jatkuvien häiriöiden seurauksena kehittyy biotoopin kannalta epäluonnollisia bakteerikantoja.

4.1 Oulujärven nykyinen tila (joulukuu 1975)

Voimakkaasti jäteveden rasittamina vyöhykkeinä (kts. kuva 5) on toistuvasti esitelty Kajaaninjoki, Paltajärvi, Sokajärvi ja Paltaselän länsiosa.

Sokajärvi:

Sokajärveen vaikuttaa ilmeisesti pääasiallisesti sen lähiympäristö. Biotoiminnan taso on olennaisesti korkeammalla kuin alueilla, joilla ei ole jätevesikuormitusta. Kajaani Oy:n ja Kajaanin kaupungin jätevedet voivat vain poikkeustapauksissa tunkeutua Sokajärveen. Jos kuormitus on jatkuva, Sokajärvessä esiintyy lisääntyvää hapenvajausta. Tähän mennessä kehitys on päässyt vaaralliselle asteelle vain järven syvimmissä kohdassa, pisteessä 96. Koska Sokajärvi keskimäärin on



Kuva 5. Oulujärven sedimentin tila vyöhykkeinä 1 - 5 kuvattuna.

matalahko, jatkuva ravinteiden lisäys johtaa vedenlaadun suhteellisen nopeaan huonontumiseen. Pohjalietteessä voidaan todeta selviä kuormituksen merkkejä pisteistä 96, 97, 98.

Kajaaninjoki, Paltajärvi:

Pohjalietteen kannalta tarkasteltuina Kajaaninjoki ja Paltajärven syvemmät kohdat ovat täysin epäluonnollisia biotooppeja. Pohjalietteen lähivyöhyke on jatkuvasti anaerobisessa tilassa. Pohjalietteestä vapautuvat kaasut ovat vesimassan biologisten tapahtumien kannalta myrkyllisiä.

Tulvan aikana vaikutukset Paltaselältä miltei eliminoidut voimakkaan hapenlisäyksen ansiosta. Ilman virtausta ja happipitoisen veden lisääystä tästä alueesta muodostuisi ennen pitkää kuollut vesistö.

Paltaselän itäosa:

Biotoiminnan taso on tässä osassa Oulujärveä yleensä luonnonmukainen. Pienehköjä alueita, joilla kuormitus on vähäistä, tavataan Paltamon edustalta, Mieslahdesta ja pisteestä 5. Paltaselän itäosaa voidaan pitää vertailualueena kuormitettujen alueiden biotoimintaa arvioitaessa. Kajaani Oy:n ja Kajaanin kaupugin jätevedet eivät ulotu Oulujärven tähän osaan.

Paltaselän länsiosa:

Paltaselän länsiosassa pohjalietteen biotoiminta on Oulujärven selkäosista vilkkainta. Piste 1 luona esiintyy säännöllisesti entsyymikineettisessä glukoosinotossa häiriöitä, samoin täydellistä hapenpuutetta. Matalissa rantavyöhykkeissä on vähäisiä pohjalietekerrostumia ja olennaisesti alhaisempia toimintoja. Suuremmat syvänteet sijaitsevat päävirran uomassa ja näissä esiintyy voimakkaamman

lietteen muodostuksen myötä pohjalietteen suurempaa kuormitusta. Paltaselän länsiosassa on alkanut vesistön kannalta vaarallinen kehitys. Tähän asti tämän alueen keskus on sijainnut pisteessä 1, mutta samankaltaisia olosuhteita on tavattavissa jo pisteissä 33, 34, 35, 38, 41 ja 42. Tyypillistä voimakkaan jätevesikuormituksen aiheuttamalle kehitykselle on se, että vaikutuksia ei huomata pitkään aikaan vesimassasta, koska ne rajoittuvat aluksi vain alusveteen. Glukoosinottonopeudet ovat saavuttaneet täällä aerobisissa olosuhteissa huippunsa.

Jatkuva jätevesikuormitus voi johtaa laajoilla alueilla pohjalietteen läheisen alusveden pysyvästi hapettomaksi.

Ärjänselkä:

Ärjänselältä tavataan kohonnutta pohjalietteen biotoimintaa vain keskiosasta.

Päävirtaus ja pääasiallinen jätevesikuormitus kulkee ilmeisesti keskiosan kautta itä-länsisuunnassa. Ympäröivillä reuna-alueilla ei vaikutusta tunnu ja toiminnan taso on niillä sama kuin suurimassa osassa itäistä Paltaselkää ja Niskanselällä. Paltaselän länsiosassa toiminta on selvästi vilkkaampaa kuin Ärjänselän keskiosassa.

Ärjänselän tulevan kehityksen laskemiseksi ei ole olemassa minkäänlaista yhtälöä. Kuitenkin kehitys läntisellä Paltaselällä lienee edennyt n. 5 vuotta pidemmälle. Tämän aikajakson kuluessa Ärjänselällä tuskin tapahtune sama kehitys, koska jätevesien leviäminen ja laimeneminen on voimakkaan tuulen vaikutuksen vuoksi Ärjänselällä suurempaa kuin Paltaselällä.

Niskanselkä:

Niskanselältä ei voitu osoittaa jälkiä jätevedestä. Niinpä pohjalietteestä ei myöskään löydetty vilkastunutta jätevesikuormitukseen viittaavaa toimintaa. Paikallisen poikkeuksen muodostaa piste 131, jossa lähiympäristön orgaaniset jätevedet vaikuttavat. Suuremmista syvyyksistä tavataan myös ympäristöön nähden kohonnutta biotoimintaa, mikä on kuitenkin selvästi Ärjänselän tasoa alemmalla tasolla. Ilmeisesti pääsyy kohonneeseen toimintaan on etsittävässä suppilo-vaikutuksesta.

Jätevesien pohjalietteeseen kohdistuva, hitaasti leviävä vaikutus ei ole vielä ulottunut Niskanselälle.

5. Yhteenveto

Jätevesipäästöjen vaikutuksia Oulujärveen tutkittiin toukokuusta 1974 joulukuuhun 1975.

Kuormitusastetta arvioitaessa käytettiin vertailupohjana Oulujärven niitä alueita, jotka eivät olleet jäteveden vaikutukselle alttiina, samoin kuin Oulujärveen laskevia vesistöjä.

Jätevesikuormituksen vaikutuksia arvioitiin pohjalietebakteereiden biotoiminnan perusteella.

Biotoiminta tarkoitti bakteereiden biokemiallista toimintaa, eli niiden aineenvaihdunnan intensiteettiä. Aineenvaihdunnan intensiteetin mittaamiseen käytettiin kolmea menetelmää:

1. Bakteereiden kykyä ottaa ^{14}C glukoosia. Glukoosinotto ilmaistiin entsyymikineettisinä parametreinä V_{\max} , T_t ja $(K_t + S_n)$.
2. Dehydrogenaasiaktiviteettia ja
3. Fosfataasiaktiviteettia.

Biotoiminnan pääasiallinen arviointi tapahtui glukoosinoton intensiteetin perusteella.

Biotoimintojen perusteella Oulujärvi voitiin jakaa vyöhykkeisiin, joissa oli erilainen kuormitusaste. Yleensä biotoiminta oli kohonnut kuormitetuilla vyöhykkeillä. Kajaani Oy:n, Kajaaninjoen ja Paltajärven viemäreiden välittömästä läheisyydestä todettiin häiriöitä, so. entsyymikineettistä glukoosinottoa ehkäisevää vaikutusta. Sama koskee aika ajoin pistettä 1 Paltaselällä.

Paltaselän länsiosassa, keskisellä Ärjänselällä ja Sokajärvellä oli muihin Oulujärven alueisiin nähden kohonnutta toimintaa. Kajaaninjoesta Oulujärveen virtaavan jäteveden lisäämistä voitiin seurata biotoiminnan asteittaisena muutoksena. Aineenvaihdunnan alkavien häiriöiden jälkeen (Kajaaninjoki ja Paltajärvi) jäteveden jatkuvasti laimetessa Paltaselällä pohjalietebakteereiden toiminta vilkastui yhtäkkiä. Etäisyyden kasvaessa viemäriin suulta heikkeni ennen kaikkea glukoosinoton intensiteetti Paltaselän länsiosasta Ärjänselän Alassalmelle päin. Ärjänselältä voitiin pohjois-eteläsuunnasta todeta toiminnan vilkastumista ainoastaan keskivaiheilta. Niskanselällä pohjalietteen biotoiminnan taso vastasi kahta poikkeusta lukuun ottamatta Oulujärven kuormittamattomien alueiden tasoa. Oulujärveen laskevissa vesistöissä pohjalietteen biotoiminnan taso oli yleensä vielä alempi kuin järven kuormittamattomilla alueilla. Paikallinen poikkeus oli suoraan Sotkamon meijerin viemäriin alapuolella. Talven aikana pohjalietteen biotoiminta oli kaikkialla

Oulujärvessä alentunutta.

Oulujärven jako eri tavalla kuormitettuihin vyöhykkeisiin tapahtui biotoiminnan mukaisessa suuruusjärjestyksessä. Voimakkaasti kuormitetuilla vyöhykkeillä glukoosinotto vaihteli välillä V_{\max} 0,1 - 1,4 mg/g TL/h, glukoosin kiertoaika, T_t 0,1 - 3 h, dehydrogenaasiaktiviteetti 3 - 16 ug formatsaania/g TL/24 h, fosfataasiaktiviteetti 50 - 100 nMol/kg TL/min (Paltaselän länsiosa), 300 - 400 nMol/kg TL/min (Sokajärvi), 100 nMol/kg TL/min (Ärjänselän selvästi kuormitettu keskiosa).

Kuormittamattomilla alueilla glukoosinotto oli V_{\max} : 0,0002 - 0,004 mg/g TL/h, T_t : 20 - 200 h, dehydrogenaasiaktiviteetti 0,4 - 2,0 ug formatsaania/g TL/24 h, fosfataasiaktiviteetti 10 - 50 nMol/kg TL/min.

Tässä tutkimuksessa käytetyt menetelmät vaativat suuren joukon koetuloksia, koska ilmeni, että Oulujärvi voidaan jakaa eri saastuneisuusalueisiin vain biotoiminnan suuruusjärjestyksinä.

Tulosten perusteella voidaan sanoa, että Kajaaninjoki - Paltajärvi alueen jätevesien vastaanottokyky on ylitetty ja Paltaselän länsiosan vastaanottokyvyn yläraja saavutettu. Myöskään Sokajärvi ei kykene vastaanottamaan enempää jätevesiä. Ärjänselällä (keskiosa) jätevesikuormitus on selvästi todettavissa. Lisäkuormitus vilkastuttaa biotoimintaa. Biotoimintaa ehkäiseviä häiriöitä, jollaisia jo nyt osittain on esiintynyt Paltaselällä, ei Ärjänselällä vielä lähiaikoina ole odotettavissa. Paltaselän itäosassa ei esiinny mairittavaa jätevesikuormitusta ja sen pohjalietteen kunto pysynee pitkän aikaa vakaana.

Niskanselälle ei pohjalietteen biotoiminnan perusteella ole levinnyt jätevesikuormitusta.

Vyöhyke 1:

Voimakas jätevesikuormitus, pysyvä, täydellinen hapenvajaus pohjaliete-vesikerroksessa, entsyymikineettinen glukoosinotto osoittaa inhibitiivisten tekijöiden esiintymistä.

Vyöhyke 2:

Olennaisesti vilkastunutta biotoimintaa, glukoosinotto anaerobisissa olosuhteissa suurempi tai yhtäsuuri kuin aerobisissa olosuhteissa. Ajoittaista täydellistä happivajasta, voimakas jätevesikuormitus, uhanalaista aluetta.

Vyöhyke 3:

Vähemmän kohonnutta biotoimintaa, aerobista glukoosinottoa, selvää jäteveden vaikutusta, jatkuvan kuormituksen myötä vyöhykkeen 2 suuntainen kehitys näkyvissä.

Vyöhyke 4:

Biotoiminta selvästi vähäisempää kuin vyöhykkeellä 3, mitään suoranaista jäteveden vaikutusta ei ole osoitettavissa, pohjalietebakteereiden lukumäärät suhteellisen suuria.

Vyöhyke 5:

Biotoiminta vähäistä, ei jätevesikuormitusta, osittain hiekkapohjaa, jossa bakteerimäärät äärimmäisen pieniä.

KIRJALLISUUS

- ALLEN, H.L. 1968. Acetate in freshwater:
Natural substrate concentrations determined by dilution assay.
Acology 49:346-349.
- BERMAN, T. 1970. Alkaline Phosphatases and Phosphorus availability
in lake Kinneret.
Limnol. Oceanogr. 15:663.
- BERMAN, T. & MOSES, G. 1972. Phosphorus availability and alkaline
phosphatase activities in two israeli fishponds.
Hydrobiologia, vol. 40,4,487-498.
- BIRGE, E.A. & JUDAY, C. 1934. Particulate and dissolved organic
matter in inland lakes.
Ecol. Monogr. 4:440-474.
- BUCKSTEEG, W. & THIELE, H. 1959. Die Beurteilung von Abwasser und
Schlamm mittels TTC.
Wasser-Abwasser, 36:916-920.
- COHEN, V.G. 1963. The distribution and ecology of bacteria in
freshwater. Proc. of the Soc. for water treatment and
examination 12:40-73.
- Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlamm-
untersuchung, Bestimmung der biochemischen Aktivität von
Schlämmen und Abwässern, L 4
Verlag Chemia, Bergheim
- DUGAN, P.R. 1975. Biochemical Ecology of Water Pollution.
Plenum/Rosette Edition, ISBN 0-306-20012-0.
- DÜSING, F. 1973. Zur Stoffwechseldynamik der fließenden Welle:
Bakterieller Abbau gelöster organischer Komponenten.
Diss., Universität Kiel.

- FLEISCHER, S. 1972. Sugars in the sediments of lake Trummen and Reference lakes. Arch. Hydrobiol. 70:392-412.
- FOGG, G.E. 1966. The extracellular products of algae
Oceanogr. Mar.Biol. Ann. Rev. 4:195-212.
- 1971. Extracellular products of algae in freshwater.
Arch. Hydrobiol. Beih. 5:1-25.
- HALL, KLEIBER, YESAKI. 1972. Heterotrophic uptake of organic solutes by microorganisms in the sediment.
Mem. Ist. Idrobiol., 29 (Suppl.):441-471.
- HARJULA, H. 1972. Hiidenveden ja Tuusulanjärven rehevöitymisen kehitys pohjasedimenttien valossa.
Helsingin kaupungin vesilaitos.
- HARRISON, WRIGHT, MORITA. 1971. Method for measuring mineralization in lake sediments.
Applied microbiology. 21:698-702.
- HILL, M.N. et al. 1963. The sea. Vol. II
John Wiley and Sons, New York
- HOBBIE, J.E. & WRIGHT, R.T. 1965. Competition between planktonic bacteria and algae for organic solutes.
Mem. Ist. Ital. Idrobiol. Suppl. 18:175-185.
- HOBBIE, J.E. & CRAWFORD, C.C. 1969 a. Bacterial uptake of organic substrate: New methods of study and application to eutrophication.
Verh. intern. Verein. Limnol. 17:725-730.
- HOBBIE, J.E. & CRAWFORD, C.C. 1969 b. Respiration corrections for bacterial uptake of dissolved organic compounds in natural waters. Limnol. Oceanogr. 14:528-532.
- HUTCHINSON, G.E. 1957. Organic matter in lakes, p. 878 -902.
Vol. I. Wiley and Sons, New York.

- JONES, J.G. 1972 a. Studies on freshwater bacteria: association with algae and alkaline phosphatase activity.
J. Ecol. 60:59,75.
- JONES, J.G. 1972 b. Studies on freshwater micro-organisms: Phosphatase activity in lakes differing degrees of eutrophication
J. Ecol. 60:777-791.
- KEPES, A. 1963. Permeases: Identification and Mechanisms, p.38-48
in: N.E. Gibbons: Recent progress in microbiology.
8th Intern.Congr. for Microbiology. Montreal.
Univ. Toronto Press, Toronto.
- KUSNEZOW, W.I. & ROMANENKO, W.I. 1966. Die Produktion der Biomasse heterotropher Bakterien und die Geschwindigkeit ihrer Vermehrung im Rybinsk-Stausee.
Verh. Intern.Verein. Limnol. 16:1493-1500.
- LAAKSONEN, R. 1965. Oulujoen vesistötutkimus. Vesiensuojelutoimiston tiedonantoja n:o 16.
- LENHARD, G. 1962. Bestimmung der verfügbaren Pflanzennährstoffe durch Ermittlung der Dehydrogenasenaktivität des Bodens
Z. für Pflanzenernährung, Bodenkunde, 99:182-187.
- LINEWEAVER, H. & BURK, D. 1934. Determination of enzyme dissociation constants. Am. Chem. Soc. 56:658-666.
- MICHAELIS & MENTEN. 1913. Kinetics of invertase action.
Z. Biochem. 49:333.
- NAUWERK, A. 1963. Die Beziehungen zwischen Zooplankton und Phytoplankton im See Erken.
Symb. Bot. Upsaliens. 17:1-163.

- OHLE, W. 1958. Die Stoffwechseldynamik der Seen in Abhängigkeit von der Gasausscheidung ihres Schlammes.
Vom Wasser:127-149.
- OHLE, W. 1962. Der Stoffhaushalt der Seen als Grundlage einer allgemeinen Stoffwechseldynamik der Gewässer.
Kieler Meeresforschungen, 18:107-120.
- 1968. Chemische und mikrobiologische Aspekte des biogenen Stoffhaushaltes der Binnengewässer.
Mitt.Intern. Verein. Limnol., 14:122-133.
- 1972. Gelöste organische Stoffe, Aufnahme und Abgabe.
Gewässerschutz, Wasser, Abwasser, Bd. 8:1-56.
- PAAVILAINEN, K. 1972. Oulujärven tarkkailu.
Oy Keskuslaboratorio Ab, Helsinki.
- PARSONS, R.T. & STRICKLAND, J.D. 1962. On the production of particulate organic carbon by heterotrophic processes in Sea water.
Deep-Sea Res., 8:211-222.
- POMEROY, L.R., SMITH, E.E. & GRANT, C.M. 1965. The exchange of phosphate between estuarine water and sediments.
Limn. Oceanogr. 10: 167-172.
- RAMIREZ-MARTINEZ, J.R. 1968. Organic Phosphorus Mineralisation and phosphatase activity ins soils.
Enzymologia. 13:161-173.
- REICHARDT, OVERBECK, STEUBING. 1967. Free dissolvel enzymes in lake waters.
Nature (London) 216:1345-1347.
- REICHARDT, W. 1971. Catalytic utilization of phosphate in lake water by Cyanophyta.
Hydrologia. 38:377-394.

- REICHARDT, W. & SIMON, M. 1972. Die Mettma-ein Gebirgsbach als Brauereivorfluter. Mikrobiologische Untersuchungen entlang eines Substratgradienten.
Arch. Hydrobiol., Suppl. 42:125-138.
- REICHARDT, W. 1973. Das Reaktionspotential im Ökosystem:
Zur Problematik limnologischer Enzymanalyse.
Arch. Hydrobiol., Suppl. 2:253-272.
- RHODE, W. 1961. Die Dynamik des limnischen Stoff- und Energiehaushaltes.
Verh. Intern. Verein. Limnol., 14:300-315.
- ROMANENKO, V.J. Heterotrophic CO₂ assimilation by bacterial flora of water. Mikrobiologia 33:679 - 683.
- SANDMAN, O. 1974. Tutkimus Espoon Pitkäjärven pohjakerrostumista.
Vesihallitus, tiedotus 61.
- SAUNDERS, G. W. 1957. The application of radioactive tracers to the study of lake metabolism.
Ph.D. diss., University of Michigan, USA.
- SOROKIN, J.I. 1965. On the trophic role of chemosynthesis and bacterial biosynthesis in water bodies. Mem. Ist. Idrobiol. Suppl. 18:187-205.
- THIENEMANN, A. 1927. Naturwissenschaften. 15:753-760.
- TSERNOGLOU, D. & ANTHONY, E.H. 1971. Particle size, water-stable aggregates and bacterial populations in lake sediments.
Can. J. Microbiol. 17:217-227.
- VALLENTYNE, J.R. 1957. The molecular nature of organic matter in lakes and oceans, with letter reference to sewage and terrestrial soils.
J. Fish. Res. Bd. Can., 14:33-82.
- WAKSMAN, S.A. 1941. Aquatic bacteria in relation to the cycle of organic matter in lakes, p. 86 -105, in: A Symposium on Hydrology, University of Wisconsin Press, Madison.

- WHITTAKER, J.R. & VALLENTYNE, J.R. 1957. On the occurrence of free sugars in lake sediment extracts. *Limnol. Oceanogr.*, 2:98-110.
- WILLIAMS, P.J.LeB. 1973. The validity of the application of simple kinetic analysis to heterogeneous microbiol populations. *Limnol.Oceanogr.* 18:159-165.
- WRIGHT, R.T. & HOBBIIE, J.E. 1966. Use of glucose and acetat by bacteria in aquatic ecosystems. *Ecology*. 47:447-464.
- The uptake of organic solutes in lake water. *Limnol.Oceanogr.* 10:22-28.
- WUNDT. W. 1950. Untersuchungen über die Reduktionswirkung von Bakterien auf Triphenyltetrazoliumchlorid. *Dtsch.Med.Wschr.*, 75:1471-1472.
- ZOBELL, C.E. 1946. Marine microbiology. *Chronica Botanica*, Co Waltham. Mass.

